



EESTI MAAÜLIKOOL  
Metsandus- ja maachitusinstituut

**Merit Fjodorov**

**JUURE- JA TÜVEMÄDANIKE KAHJUSTUSTE ANALÜÜS  
ÜLE 80 AASTASTES HARILIKU KUUSE (*PICEA ABIES* (L.)  
KARST.) PUISTUTES**

ANALYSES OF ROOT AND BUTT ROT DAMAGES IN OVER 80 YEAR  
OLD NORWAY SPRUCE (*PICEA ABIES* (L.) KARST.) STANDS

Magistritöö  
Metsamajanduse õppekava

Juhendajad    teadur, Tiia Drenkhan,  
                         *PhD*  
                         dotsent, Rein Drenkhan,  
                         *PhD*

Tartu 2019

Eesti Maaülikool Kreutzwaldi 1, Tartu 51014		Magistritöö	
Autor: Merit Fjodorov		Õppekava: Metsamajandus	
Pealkiri: Juure- ja tüvemädanike kahjustuste analüüs üle 80 aastastes hariliku kuuse ( <i>Picea Abies</i> (L.) Karst.) puistutes			
Lehekülgi: 43	Jooniseid: 9	Tabeleid: 6	Lisasid: 1
Osakond / Õppetool: Metsakasvatuse ja metsaökoloogia õppetool ETIS-e teadusvaldkond ja CERC S-i kood: Metsapatoloogia Juhendaja(d): Tiia Drenkhan <i>PhD</i> Rein Drenkhan <i>PhD</i> Kaitsmiskoht ja -aasta: Tartu, 2019			
<p>Magistritöös uuriti juure- ja tüvemädanike esinemist üle 80 aastastes harvendatud ja harvendamata hariliku kuuse enamusega puistutes. Eesmärk oli analüüsida juure- ja tüvemädanike osakaalu ja levikut viljakates kasvukohatüüpides ning tegureid, mis enim mõjutavad mädanike levikut, sealhulgas puistu koosseisu (okaspuu või lehtpuu) mõju juuremädanike levikule.</p> <p>Andmeid koguti 59 alalt, igalt alalt koguti proove 12 puult, kokku analüüsiti 708 hariliku kuuse juurdekasvuproovi. Juurdekasvuproovide liigispetsiifilised PCR - analüüsid juure- ja tüvemädanike tuvastamiseks teostati Eesti Maaülikooli metsapatoloogia- ja geneetika laboris. Lisaks analüüsiti uue põlvkonna sekveneerimise (Illumina platform) abil 32 juurdekasvuproovist teisi mädanikutekitajad</p> <p>Töö tulemusena selgus, et eelkõige juurepessu kahjustuse tõttu oli kuusikutes vanuses 101+ sanitaarne seisund oluliselt halvenenud võrreldes 81-100 aastaste puistutega. Kuuse enamusega puistutes mõjutab juure- ja tüvemädanike (külmaseen ja juurepess) osakaalu puistu keskmine diameeter, samuti mõjutab patogeenide levikut suurem okaspuude (männi ja kuuse) ning üllatuslikult lehtpuude (kase ja haava) keskmine osakaal. Juurepessu levikut suurendas vanuses 101+ aastat kõige enam suurem okaspuu (kuuse ja männi) koosseis puistus, mulla pH ning kase koosseis puistus ning puistute harvendamata jätmine. Harvendatud aladel vanusegrupis 81-100 oli juurepessu kahjustusi enam (39,4%) kui harvendamata aladel (35,1%). Vanusegrupis 101+ oli tulemus vastupidine, kus harvendamata aladel (47,2%) tuvastati juurepessu kahjustust enam kui harvendatud aladel (46,7%). Harvendamata puistutes vanusegrupis 81-100 suureneb juurepessu osakaal okaspuu koosseisu suurenemisel, kuid vanusegrupis 101+ juurepessu leviku intensiivsus ei sõltunud okaspuu koosseisust. Harvendatud aladel nii selgeid seoseid ei olnud ning puistu okaspuu koosseisu ja juurepessu esinemise vahel ei olnud seosed statistiliselt</p>			

olulised. Harvendamata puistutes vanuses 81-100 aastat lehtpuu koosseisu suurenedes vähenes juurepessu kahjustuse osakaal, kuid vanusegrupis 101+ olid tulemused vastupidised, lehtpuu osakaalu suurenemisel suurenes ka juurepessu osakaal. Harvendatud kuuse enamusega puistutes ei olnud statistiliselt olulisi seoseid lehtpuu osakaalu ja juurepessu esinemise vahel. Kasvukohatüüpide analüüsimisel selgus, et sinilille kasvukohatüübi kuusikutes vanusegrupis 81-100 oli juurepessust kahjustatud 51% puudest ning 101+ vanusegrupis 36,6% puudest. Naadi kasvukohatüübis oli vanusegrupis 81-100 aastat juurepessu poolt kahjustatud 11,1% puudest ning 101+ vanusegrupis 41,1% puudest. Jänesekapsa kasvukohatüübi puistutes oli vanusegrupis 81-100 juurepessu poolt kahjustatud 36% ning 101+ vanuses 50% puudest. Teised mädanikutekitajad harilikul kuusel, mida juurdekasvuproovidest tuvastati olid jalg-jänesepäss, kännupess ning kuusekorgik.

Töö tulemustest järeldub, et kuusikute sanitaarne seisund vanuses 81-206 aastat on kehvasõltumata sellest, kas puistud on harvendatud või harvendamata ning raiete teostamine ei ole ainus juuremädanike levikut soodustav faktor, seda mõjutavad lisaks ka mitmed teised tegurid.

Märksõnad: juurepess (*Heterobasidion* spp.), külmaseen (*Armillaria* spp.), verev nahkis (*Stereum sanguinolentum*), harvendusraie, liigispetsiifiline PCR

Estonian University of Life Sciences Kreutzwaldi 1, Tartu 51014		Abstract of Master's Thesis	
Author: Merit Fjodorov		Curriculum: Forestry Management	
Title: Analyses of root and butt rot damages in over 80 year old Norway spruce ( <i>Picea abies</i> (L.) Karst.) stands			
Pages: 43	Figures: 9	Tables: 6	Appendixes: 1
Department / Chair:		Chair of Silviculture and Forest Ecology	
Field of research and (CERC S) code:		Forest pathology	
Supervisors:		PhD Tiia Drenkhan PhD Rein Drenkhan	
Place and date:		Tartu, 2019	
<p>In this Master's thesis, root and butt rot in Norway spruce stands over the age of 80 were studied. The aim of this study was to analyze the presence of root and butt rot and distribution in fertile forest site types. In addition, the effect of stand composition (conifer or deciduous) on the spread of root and butt rot was analyzed.</p> <p>Samples was collected from 59 plot, 12 samples from each plot. In total, 708 Norway spruce increment core samples were analyzed. Increment core samples were analyzed using species-specific PCR primers to detect root and butt rot agents. The analyses were carried out in the Laboratory of Forest Pathology and Genetics at the Estonian University of Life Sciences, and the new generation sequencing (Illumina platform) was done at the Institute of Genomics in University of Tartu.</p> <p>As a result, 101+ year old Norway spruce stands were significantly affected by <i>Heterobasidion</i> root rot compared to 81-100 year old stands. In Norway spruce stands, the percentage of root and butt rot (caused by <i>Heterobasidion</i> spp. and <i>Armillaria</i> spp.) was influenced by average diameter, proportion of Scots pine and Norway spruce, and suprisingly, proportion of birch and aspen in stands. The spread of <i>Heterobasidion</i> root rot was affected by composition of coniferius trees (Norway spruce and Scots pine), soil pH, composition of birch and if the stand was managed or unmanaged. <i>Heterobasidion</i> root rot damage was higher in managed plots in age 81-100 (39.4%) compared to unmanaged stands (35.1%). However, in 101+ year old unthinned stands <i>Heterobasidion</i> root rot damage was higher (47.2%) compared to thinned stands (46.7%). The effect of stand composition showed that in unmanaged 81-100 year old stands <i>Heterobasidion</i> root rot damage increased significantly when the proportion of coniferous trees was enlarged. In age 101+, the proportion of coniferous trees did not have statistically significant</p>			

differences. In thinned plots there was a statistically insignificant correlation between the composition of coniferous trees and the occurrence of *Heterobasidion* root rot. As the composition of deciduous trees increased, the proportion of *Heterobasidion* root rot damage decreased in unmanaged spruce dominated stands of age 81-100. In unmanaged 101+ year old stands, the results were opposite: the proportion of *Heterobasidion* root rot damage was increasing when the composition of deciduous trees was higher. In thinned stands, there was statistically insignificant difference between the composition of deciduous trees and the damage of *Heterobasidion* root rot in thinned spruce stands. Analyzing the forest site types, *Heterobasidion* root rot was frequent in *Hepatica* forest site type (51% of stands aged 81-100 and in 36.6% of stands aged 101+ were infected). In *Aegopodium* forest site type the damage of *Heterobasidion* root rot was 11.1% in the age group 81-100 and 41.1% in the age group 101+. In *Oxalis* site type spruce stands damage by *Heterobasidion* root rot was 36% in the age group 81-100 and 50% in age group 101+. Other fungi that cause root rot were also detected in Norway spruce increment core samples, and those fungi were: *Onnia Tomentosa*, *Fomitopsis pinicola* and *Antrodia serialis*.

The sanitary condition of Norway spruce stands of age 81-206 is poor and forest management is not the only reason affecting the spread of *Heterobasidion* root and butt rot, the health conditions were influenced by various other factors.

Keywords: *Heterobasidion* root rot. *Armillaria*, *Stereum Sanguinolentum*, thinning, species-specific PCR

## SISUKORD

SISSEJUHATUS .....	7
LÜHENDITE JA MÕISTETE SELGITUS.....	9
1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE .....	10
1.1 Juurepessu ( <i>Heterobasidion</i> spp.) iseloomustus ja levik.....	10
1.2 Külmasene ( <i>Armillaria</i> spp.) üldiseloomustus ja levik .....	13
1.3 Verev nahkise ( <i>Stereum sanguinolentum</i> ) üldiseloomustus ja levik .....	14
2. MATERJAL JA METOODIKA .....	15
2.1 Välitööde metoodika.....	15
2.1.1 Puiduproovide kogumine.....	15
2.1.2 Mullaproovide kogumine .....	15
2.2 Katsealade kirjeldus.....	16
2.3 Laboratoorsed tööd .....	17
2.3.1 DNA eraldamine ja uue põlvkonna sekveneerimine .....	18
2.3.3 Liigispetsiifiline PCR .....	18
2.3.4. Gelelektroforees.....	19
2.4 Statistiline analüüs .....	19
3. TULEMUSED .....	21
3.1 Mädaniku esinemine kuuse enamusega puistutes .....	23
3.2 Juurepessu esinemise ja leviku hinnang .....	25
3.3 Raiete ja vanuse mõju juurepessu levikule ja osakaalule .....	27
3.4 Juurepessu osakaalu sõltuvus okaspuu koosseisust puistus .....	28
3.5 Juurepessu osakaalu sõltuvus lehtpuu koosseisust puistus.....	29
3.6 Juurepessu levik erinevates kasvukohatüüpides.....	30
3.7 Teised mädanikutekitajad kuuse enamusega puistutes .....	31
4. ARUTELU .....	33
KOKKUVÕTE .....	37
KASUTATUD KIRJANDUS .....	39
LISA .....	42
Lisa 1. Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks .....	43

## SISSEJUHATUS

Eesti pindalast moodustab metsamaa 51,4% ning hariliku kuuse (*Picea abies*) puistud moodustavad puuliikide tagavarast 25,6% ja 18,8% metsamaa pindalast (Aastaraamat...2017). Kuusele sobilikud kasvukohatüübid on viljakad kasvukohatüübid (naadi, jänesekaspa ja sinilille), kus puude kasvutingimused on head (prognoositav juurdekasv 3,62 milj. m<sup>3</sup>/aastas) ja neid puistusid on otstarbekas majandada (Aastaraamat...2017).

Lageraie teostamine on lubatud IA boniteedi kuusikutes alates 60 aasta vanuselt, I boniteedi kuusikutes 70. aastaselt ning II boniteedi kuusikutes alates 80 aastastaselt ning III, IV, V ja Va boniteedi kuusikutes on lubatud raiuda kuusikuid alates 90 aastaselt (Metsa majandamise eeskiri 2006). Raiete kogumahust sooritati uuendusraieid kuusikutes 2016. aastal 42,6% ning hooldusraieid 30,6% (Aastaraamat...2017). Harvendusraied on üks raieviisidest, mis kuusikutes metsamajanduslike võtetena kasutatakse. Metsaseaduse järgi tehakse harvendusraiet metsa väärtuse tõstmiseks, metsa tiheduse ja koosseisu reguleerimiseks ning lähitulevikus väljalangevate puude puidu kasutamise võimaldamiseks (Metsaseadus 2007 §28 lg7). Harvendusraieid teostatakse puistutes, kus keskmine rinnasdiameeter on 8 sentimeetrit või suurem (Metsaseadus 2007 §28 lg4). Enne seda teostatakse hooldusraieid. Harvendusraiete teostamine soodustab omakorda juuremädanike levikut, kuna raie tagajärjel tekkivad okaspuukännud nakatuvad juuremädanikke tekitavate seeneeostega (Piri ja Korhonen 2008). Harvendusreite teostamine peaks toimuma perioodil, kui juurepessu seeneeosed ei levi (Hanso ja Hanso 1999a).

Aastal 2017 muudeti metsa majandamise eeskirja, mis lubab kuusikutes uuendusraiet varasemas vanuses, s.o alates 60 aastast. Käesolevas töös uuritavad puistud jäävad lõppraie lubatud vanusepiiresse ja on vanemadki. Käesoleva töö hüpoteesideks on: (1) raiumata ja raiutud kuusikutes on juure- ja tüvemädanike kahjustuse osakaal sarnane ning (2) vanemad kuusikud on kõrgema mädanike kahjustuse riskiga. Magistritöö eesmärkideks on analüüsida: (1) viljakates (naadi, jänesekaspa, sinilille) ja üle 80 aasta vanustes kuusikutes juurepessu kahjude osakaalu; (2) harvendatud ja harvendamata üle 80 aastastes hariliku kuuse puistutes juurepessu levikut ja juuremädanike osakaalu; (3) puistu koosseisu mõju juurepessu levikule; (4) mitmete puistu parameetrite koosmõju juuremädanike levikule ja kahjustusele

Töö esimene osa on kirjanduse ülevaade kus tutvustatakse magistritöös uuritavaid juure- ja tüvemädanike tekitajaid (juurepess, külmaseen ja verev nahkis). Materjali ja meetodika peatükis antakse ülevaade välitöödel proovide kogumise ning laboratoorsete tööde meetodikatest ning statistilisest analüüsist. Tulemuste osas on välja toodud olulisemad tulemused, mida on eraldi analüüsitud arutelu peatükis.

Autor avaldab suurt tänu abi eest lõputöö valmimisel Tiia Drenkhan'ile, Rein Drenkhan'ile, Elisabeth Rähn'ile, Kalev Adamson'ile, Katrin Jürimaa'le, Marili Laas'ile, Liina Jürisoo'le, Ahto Agan'ile, Andres Kiviste'le ja Allar Padari'le.

Lõputöö on koostatud RMK projekti "Kuusikute raieaja ja raieviiside mõju patogeenide levikule ja arvukusele ning puistu elurikkusele viljakates kasvukohatüüpides (1.09.2016–31.08.2019)" raames.



## LÜHENDITE JA MÕISTETE SELGITUS

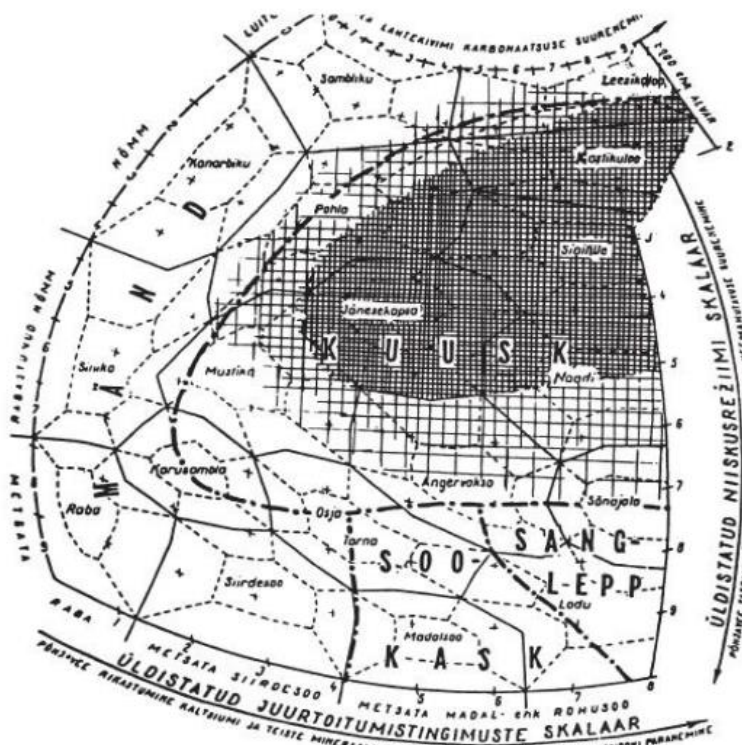
1. DNA – desoksüribonukleiinhape, pärilikkuse kandja,
2. DNA eraldamise kit – erinevate keemiliste lahuste komplekt DNA eraldamiseks,
3. PCR – polümeraas ahelreaktsioon, võimaldab mitmekordistada DNA järjestust,
4. Practioner – lühike DNA või RNA lõik, mis on vastavuses uuritava haiguse tekitaja DNA järjestusega,
5. Uue põlvkonna sekveneerimine (NGS) – selle metoodika abil on võimalik sekveneerida uuritavas proovis kogu geneetilise materjali DNA järjestusi, nt liikide tuvastamiseks,
6. Transilluminaator – geelipildi visualiseerimine UV-kiirte abil (Heinaru 2012).

# 1. KIRJANDUSE ÜLEVAADE

## 1.1 Juurepessu (*Heterobasidion* spp.) iseloomustus ja levik

Juuremädaniku tekitaja juurepess (*Heterobasidion* spp.) on kõige ohtlikum seenpatogeen harilikul kuusel Skandinaavia metsades (Bendz-Hellgren jt 1998). Juure- ja tüvemädaniku tekitajana vähendab juurepess puidu kvaliteeti ning kuusikutest saadavat majanduslikku tulu (Arnerup jt 2010). Juurepess hakkas metsades kiiremini levima sellest ajast, kui võeti kasutusele saag, millega tekitatakse ristsuunaline lõikepind, mille kaudu on seeneeostel lihtsam puitu pääseda (Hanso ja Drenkhan 2005). Inimtegevuse poolest on juurepessu levikut suurendanud harvendusraiate teostamine ning eelnev maakasutusajalugu (Stenlid ja Redfern 1998). Majandusmetsades, eriti puhtpuistutes, aitab juurepessu levikule kaasa raietegevus, mille käigus tekitatakse juurepessu levikut soodustavad kännud (Piri ja Valkonen 2013). Värske kändude olemasolu kiirendab seeneeoste levikut juurekontaktide kaudu ka teistele puudele (Swedjemark ja Stenlid 1993). Puhtpuistutes on juurepessu levik veelgi intensiivsem, kuna nakkus levib eriti monokultuurses puistus tihedate juurekontaktide kaudu edasi teistele puudele (Piri ja Korhonen 2008). Majandusmetsades on juurepessu levikut soodustavaks tingimuseks asjaolu, kui eelmises metsapõlves on olnud juurepessu nakkus ning uus metsapõlvkond rajatakse puuliiki vahetamata (Sierota 2013). Juurepessu levikut soodustavad ka kliimamuutused, kuna talved on muutumas soojemaks ja lühemaks ning raietöid teostatakse nendel aegadel pikemalt, mil juurepessu eosed levivad (Müller jt 2018).

Juurepessu esinemine oleneb suuresti ka metsa kasvukohatüübist, kuivemate muldadega aladel on juurepessul soodsamad tingimused levimiseks, kuid patogeen ei suuda siiski levida ekstreemselt kuivades kasvukohatüüpides (Hanso ja Hanso 1999a). Juurepessule vastuvõtlikud kasvukohatüübid hariliku kuuse puistutes on jänese kapsa, sinilille, naadi ning kastikuloo (vt. Joonis 1; Hanso ja Hanso 1999a).



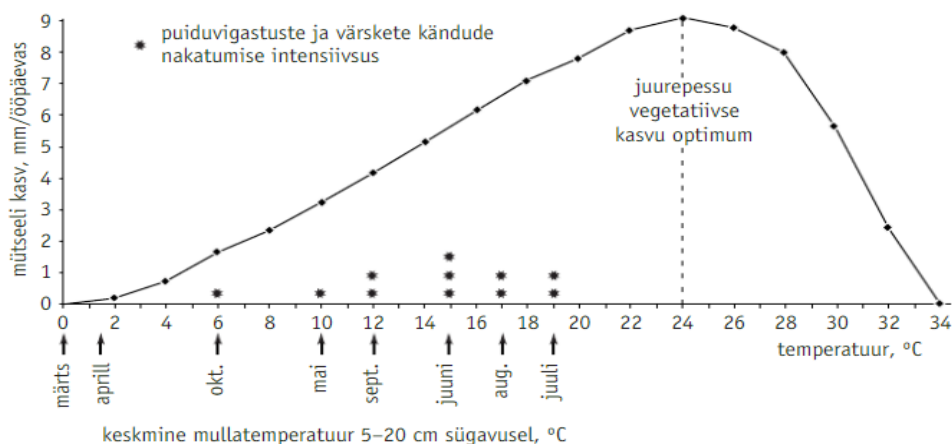
**Joonis 1.** Juurepessu nakkusele vastuvõtlikud kasvukohatüübid kuuse enamusega puistutes on viirutatud (Hanso ja Hanso 1999a järgi)

Juurepess on haigus, mis tekitab juuremädanikku ning levib peamiselt okaspuupuistutes mõõduka kliimaga parasvöötmemetsades (Garbelotto ja Gonthier 2013). Juurepess (*Heterobasidion* spp.) on Eesti metsades kõige olulisem juuremädaniku tekitaja ja kõige olulisem puidukahjustaja (Hanso ja Õunap 2016). Eestis on levinud kaks juurepessu liiki – männi-juurepess (*Heterobasidion annosum*) ja kuuse-juurepess (*Heterobasidion parviporum*). Kuuse-juurepessu peremeestaimedeks on peamiselt harilik mänd (*Pinus sylvestris* L.) ja harilik kuusk (*Picea abies* L.) (Hanso ja Drenkhan 2005), männi-juurepessu on lisaks määratud ka harilikul kadakal (*Juniperus communis* L.), arukasel (*Betula pendula*) ja puhmastaimedel (mustikas ja kanarbik) (Hanso ja Hanso 1999a).



**Joonis 2.** Kuuse-juurepessu viljakeha hariliku kuuse juurel (Foto: Rein Drenkhan)

Juurepessu mütseel levib temperatuurivahemikus 0...34 °C, kõige soodsamalt temperatuuril 22...28 °C, kuid keskmine mullatemperatuur ei tõuse Eestis ka suvisel perioodil vajalikule tasemele, mistõttu on seene levimine juurekontaktide kaudu kõige kiirem kergetes ja hästi soojenevates muldades (Joonis 1) (Hanso ja Hanso 1999a). Kuusikutes on suurimad juurepessukahjustused hea õhustusega viljakatel rähk- ja jääkkarbonaatmuldadel, ning lisaks ka leetunud muldadel kasvavates kuusikutes (Hanso ja Hanso 1999a).



**Joonis 3.** Juurepessu mütseeli leviku seos temperatuuridega (Hanso ja Hanso 1999a järgi)

Juurepessu üheks tõrjeviisiks on kasutusele võetud biopreparaat Rotstop<sup>®</sup>, mis põhineb puitu lagundaval seenel hiidkoorik (*Phlebiopsis gigantea* Jülich.). Hiidkoorik on saprotroofne puidulagundaja ning sarnaselt juurepessule levib ka hiidkoorik pärast raiet värsketele kändudele (Holdenrieder ja Greig 1998). Biopreparaat on saadud hiidkooriku tööstusliku paljundamise käigus ning selle eesmärk on kahe elusorganismi vaheline konkurets, preparaadi kasutamine on keskkonnale ohutu (Barratt jt 2010).

## 1.2 Külmaseene (*Armillaria* spp.) üldiseloomustus ja levik

Külmaseen (*Armillaria* spp.) on juurepessu järel üks olulisemaid juuremädaniku tekitajaid (Hanso ja Hanso 1999b). Külmaseene iseloomulikuks tunnuseks on risomorfid, mida võib leida nakatunud puu koore alt (Hanso ja Hanso 1999b). Risomorfid meenutavad juuri, mis on vanemas eas tumepruuni värvusega ning nooremas eas punakaspruunid (Kubiak jt 2017). Külmaseen võib põhjustada ulatuslikke kahjustusi vilja- ja metsapuudele (Lochman jt 2004). Külmaseene edasi levimise jaoks sobilikud temperatuurid jäävad vahemikku 10-30 °C ning optimaalseimad temperatuurid on vahemikus 20-22 °C (Keca 2005). Seen kasutab puude kändusid toiteallikana ning selle abil on võimeline liikuma risomorfide abil mullas ja metsakõdus sadade meetrite kaugusele (Morrison 2004). Külmaseene perekond levib üle maailma, seda leidub boreaalsetes, parasvöötme ja troopilistes metsades, põhjustades suurt majanduslikku kahju (Prospero 2003). Külmaseene perekonna esindajad on valgemädaniku tekitajad, lagundades tselluloosi, hemitselluloosi ning ligniini (Fox 2000). Külmaseen võib nakatada igas vanuses puid, seda on leitud juba kolme aastastelt puudelt, kõige suuremat kahju puudele tekitab vanuses 10-30 aastat (Manka 2007).

Eestis on leitud viit erinevat liiki külmaseent: põhja-külmaseen (*Armillaria borealis*), tutt-külmaseen (*A. cepistipes*), tõmmu külmaseen (*A. ostoyae*), tamme-külmaseen (*A. tabescens*) ja mugul-külmaseen (*A. gallica*), nendest kõige patogeensem liik on tõmmu külmaseen oma kiire leviku tõttu (Hanso ja Hanso 1999b). Külmaseene perekonna esindajad on peamiselt puittaimede patogeenid, nakatades nii okas- kui lehtpuid (Fox 2000).



**Joonis 4.** Puu tüvel olevad külmasene risomorfid (Foto: Rein Drenkhan)

### **1.3 Verev nahkise (*Stereum sanguinolentum*) üldiseloomustus ja levik**

Verev nahkis (*Stereum sanguinolentum*) on kandseente perekonda kuuluv seen, mis on boreaalsetes metsades tavaline valgemädaniku tekitaja äsja surnud okaspuupuidul ning -kändudel (Niemelä jt 1995). Seen võib tungida ka elusa puu puitu juure- ja juurekaelavigastuste kaudu, mis muudab selle seene ohtlikuks just harilikule kuusele, põhjustades elusate puude tüvemädanikku (Isomäki ja Kallio 1974). Verev nahkise eosed levivad õhu kaudu (Roll-Hansen ja Roll-Hansen 1995). Verev nahkis ja juurepess on kaks kõige olulisemat mädaniku tekitajat harilikul kuusel Lõuna-Soomes, kus on selgunud, et lisaks mädanikule asustab verev nahkis kuusekännud juba aasta pärast puude langetamist (Hallaksela 1984; Kallio 1965). Eestis on verev nahkise levikut hariliku kuuse puistutes vähem uuritud, kuid teadaolevalt on patogeeni esinemissagedus 20-25% (Hanso ja Hanso 1999b).

## **2. MATERJAL JA METOODIKA**

### **2.1 Välitööde metoodika**

#### **2.1.1 Puiduproovide kogumine**

Käesolevas töös analüüsitud proovid on kogutud 2016. ja 2017. aastal. Lõputöös analüüsiti andmeid kokku 59 katsealalt ning igal alal puuriti 12 puud, kokku  $N=708$  juurdekasvuproovi. Välitöödel valiti igalt proovitükilt juhuslikult elusad puud 0,25 ha piires. Eluspuudelt proovide kogumine toimus 10 mm juurdekasvupuuriga, puuriti kuni puu tsentrini 20-30 cm kõrguselt maapinnalt ehk kännu kõrguselt. Igalt puult võeti üks juurdekasvuproov, mis asetati steriilsesse proovikotti, millele kirjutati peale katseala nimetus ja puu diameeter või ümbermõõt kännu kõrguselt. Pärast iga proovi võtmist juurdekasvupuur steriliseeriti 96%-lises piirituses ning põletati gaasilambi leegis. Kogutud proovid säilitati -20°C juures kuni edasiste analüüsideni.

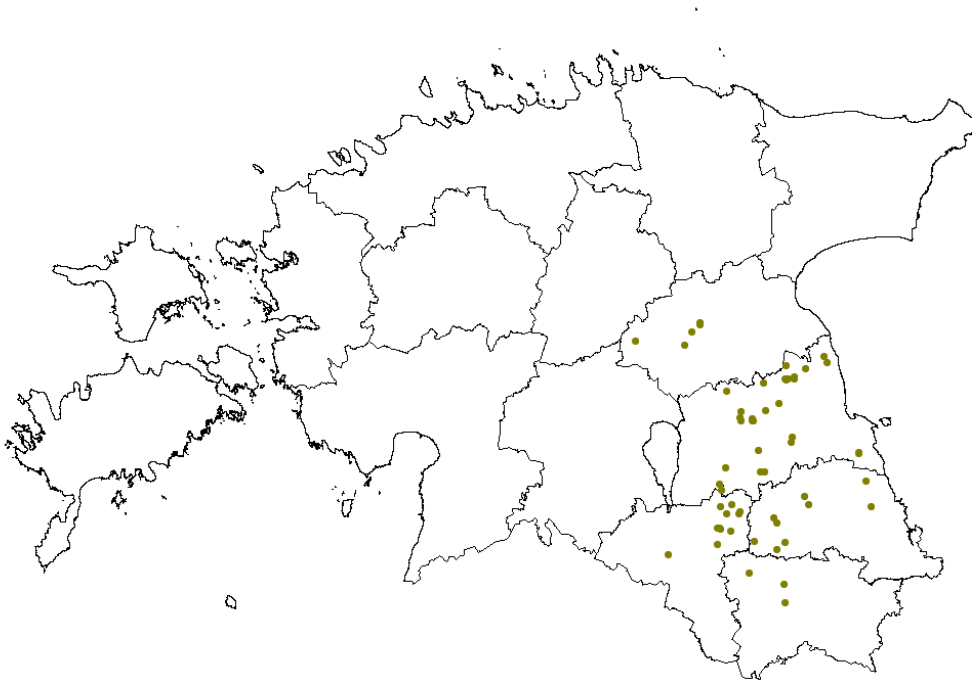
#### **2.1.2 Mullaproovide kogumine**

Mullaproovide kogumine toimus vastavalt protokollile (Tedersoo jt 2014). Proovide kogumisel valiti proovivõtukohtad selliselt, et ala oleks paremini esindatud. Prooviaala suuruseks oli ca 0,25 ha ning milles olid esindatud puistu koosseisus olevad puuliigid. Proovide kogumisel valiti juhuslikult 20 puud või kändu ning jälgiti, et vahemaa puude ja kändude vahel oleks vähemalt 8 meetrit, iga puu või kännu juurest koguti puhastatud ja steriliseeritud noa või mullapuuriga kaks mullaproovi, mõlemalt poolt puud või kändu, vähemalt 5 sentimeetri sügavuselt. Mullaproovi kogumisel tuli jälgida, et proov sisaldaks nii orgaanilist kui pealmist mineraalkihti. Ühe mullaproovi kohta asetati plastikkotti  $\frac{1}{4}$  mullaproovist, jämedad juured ja kivid eemaldati proovidest. Ühelt alalt koguti 40 mullaproovi, mis asetati ühte plastikkotti ja segati läbi ning iga ala kohta koguti 250-500 g mulda. Kogutud mullaproovid kuivatati ventileeritud ruumis ja toatemperatuuril ca 1 nädala jooksul. Peale seda võeti proov keemilisteks analüüsideks. Seejärel kuivanud mullast

eraldati peeneteraline mullatolm ning jämedam osa ja sorteeritud osad asetati eraldi plastikkottidesse ning säilitati edasisteks analüüsideks.

## 2.2 Katsealade kirjeldus

Käesoleva töö katsealad asuvad Riigimetsa Majandamise Keskuse (RMK) Põlva-, Tartu-, Valga- ja Võrumaa metskondades (Joonis 5, Tabel 3) ja Järvelja Õppe- ja Katsemetskonnas, uuritavateks aladeks on üle 80 aasta vanused kuuseenamusega puistud, kus kuuseosalus on 50 % ja enam.



**Joonis 5.** Uuritavate katsealade asukohad 5 maakonnas

Katsealad olid viljakatest kasvukohatüüpidest: jänesekapsa (N=38), naadi (N=8), sinilille (N=12) ja jänesekapsa-mustika (N=1). Töö eesmärgiks oli analüüsida juuremädanike leviku erinevusi ja iseärasusi harvendatud ja harvendamata puistutes, seega valiti nii varasemate harvendusraietega alasid (29 ala) kui ka teadaolevalt harvendamata alasid (30 ala) (Tabel 3).



## 2.3 Laboratoorsed tööd

Laboratoorsed tööd teostati Eesti Maaülikooli Metsandus- ja maaehitusinstituudi Metsapatoloogia- ja geneetika laboris, Tartus, Kreutzwaldi 5. Lõputöö raames teostati laboratoorsete töödena: puiduproovide ettevalmistamine, DNA eraldamine puidust ning määrati, kasutades peamiselt liigispetsiifilisi praimereid: perekond juurepess ja külmaseen ning liigi tasemel kuuse-juurepess (*Heterobasidion parviporum*), männi-juurepess (*Heterobasidion annosum*) ja verev nahkis (*Stereum sanguinolentum*). Laboratoorsed tööd on teostatud sarnase metoodikaga nagu töö autori bakalaureusetöös (Fjodorov 2017).

Puiduproovide ettevalmistamisel töövahendid steriilseeriti 96%-lises piirituses ja gaasilambi leegis. Puiduproov koguti juurdekasvuproovi tsentraalsest osast skalpelli abil, igalt juurdekasvuproovilt koguti 0,05 grammi puitu kahes korduses. Mädaniku või tumenemise esinemise korral koguti proov terve ja mädanikuga puidu piirilt, puiduproovid pandi 2 ml Eppendorf (MCT) tuubidesse ning säilitati -20 °C kuni edasiste analüüsideni. Kontrolliti välitöödel teostatud visuaalseid mädaniku hinnanguid juuredekasvuproovidel, erinevuste esinemisel välitöödel ja laboris hinnatud mädaniku esinemise vahel, teostati vajalikud parandused ning pandi kirja laboris tehtud hinnangud.

Kokku analüüsiti molekulaarselt N=708 puiduproovi, millest N=676 proovi analüüsiti liigispetsiifiliste praimerite abil ning ülejäänud proovid (N=32) analüüsiti uue põlvkonna sekveneerimisega, tulemusena saadi teised võimalikud mädanikutekitajad harilikul kuusel. Esmalt testiti proovides juurepessu esinemist DNA põhiselt perekonna tasemel, kui see tulemus saadi positiivne, siis testiti samasid proove kuuse- ja männi-juurepessu liigispetsiifiliste praimeritega täpseks tekitaja tuvastamiseks. Juurdekasvuproovid, millel visuaalselt välitöödel esines mädanik, kuid juurepessu esinemist ei tuvastatud, analüüsiti ka külmaseene perekonna ja verev nahkise liigispetsiifiliste praimeritega, viimane disainiti käesoleva uuringu tarvis.

Antud magistritöös kasutati ka uue põlvkonna sekveneerimist (Illumina platform MiSeq 2x300 bp), mille abil analüüsiti 32 puiduproovi. Illumina sekveneerimine võimaldab määrata kõik puidus levinud mikroorganismid (s.o antud töös seenorganismid), seega analüüsi käigus saadi infot ka teiste võimalike mädanikutekitajate kohta puidus. Magistritöö raames teostati kokku enam kui 2500 DNA analüüsi, laboratoorsete tööde maht oli hinnanguliselt 500

töötundi.

### 2.3.1 DNA eraldamine ja uue põlvkonna sekveneerimine

DNA eraldamiseks kasutati puidu juurdekasvuproove, selleks lisati MCT tuubi viis metallkuuli, mille läbimõõduks oli 3mm, rakkude eraldamine teostati homogenisaatoriga (Retsch GmbH, Haan, Saksamaa). DNA eraldamisel oli kasutusel spetsiaalne komplekt DNA Thermo Scientific GeneJet Genomic DNA Purification kit (Leedu, Thermo Fisher Scientific). DNA eraldamisel saadud proovid säilitati sügavkülmikus -20 °C juures. Proovide PCR analüüsid, kontroll ja ettevalmistustööd sekveneerimiseks tehti sarnaselt kirjeldatud protokollile (Drenkhan jt 2017).

Uue põlvkonna sekveneerimise (Illumina platformil) teenus telliti TÜ Eesti Geenivaramu tuumiklaborist, seega sekveneerimisega töö autor ei tegele. Uue põlvkonna sekveneerimisest saadud andmetele oli esmane bioinformaatika tehtud ja andmed analüüsiks ette valmistatud ning edastatud juhendajate poolt käesoleva töö autorile.

### 2.3.3 Liigispetsiifiline PCR

Proovide analüüsimisel kasutati juurepessu perekonnapõhist praimerit Het-ITS-F (5'-AGAATGGTATCAATGCTATAAAACG-3') ja Het-ITS-R (5'-AGGGTCTCGCTAATGCAT-3') (Aosaar jt 2019, avaldamisel) ja külmaseene perekonnapõhist praimerit ArmiR ja ArmiF (Rosenvald jt 2015). Liigispetsiifilisi primereid (KJ-F - 5'-CCATTAACGGAACCGACGTG-3' ja KJ-R - 5'-GTGCGGCTCATTCTACGCTATC-3';) (Hantula ja Vainio 2003) kasutati kuuse-juurepessu tuvastamiseks ning männi juurepessu tuvastamiseks kasutati primereid (He.an-ITS-F - 5'-GGGTTCTTTTGACCCCTT-3' ja He.an-ITS-R - 5'-CAATCGTGCGGTACCA-3') (Aosaar jt 2019, avaldamisel). Verev nahkise tuvastamiseks kasutati käesoleva töö jaoks disainitud primereid (Ste.an-ITS-F - 5'-GGAACCGACGCAAGTCGTAAGT-3' ja Ste.an-ITS-R - 5'-CAAGCCCTGGCTTCACCA-3'; Riit jt, avaldamata).

Segu valmistamisel liigispetsiifilise PCR-i jaoks kasutatakse 5x HOTPol Blend Master Mix'i RTL (OÜ Solis Biodyne, Tartu) 4µl ühe proovi kohta, millele lisatakse 0,5 µl (20 µM) kogus mõlemast praimerist (KJ-F ja KJ-R; Het-ITS-F ja Het-ITS-R; ArmiR ja ArmiF;

Ste.an-ITS-F ja Ste.an-ITS-R), 1 µl DNA-d ja 14 µl destilleeritud vett, ühe DNA kohta saadakse koguseks 20 µl. Tulemuste kontrollimiseks jäeti segust välja DNA ning lisati destilleeritud vesi.

DNA denaturatsioon ehk DNA lõigu kordistamine teostati termotsüklerida Tprofessional Thermocycler (Biometra GmbH, Göttingen, Saksamaa), igal liigil on oma kindel protoll (vt. Riit jt, Rosenvald jt 2015, Aosaar jt. 2019). Tabelis 1 on välja toodud erinevate seeneliikide spetsiifilised programmid, mida liigi tuvastamiseks kasutati.

**Tabel 1.** PCR analüüsis kasutatavate termotsükleri programmide kestused ja temperatuurid

Uuritav liik	Eelkuumutamine	DNA denaturatsioon	Praimerite seondumine	DNA ahela süntees	Lõppekstensioon	Tsükli arv
Kuusejuurepess	10 min 95 °C	30 sek 95 °C	35 sek 66 °C	1 min 72 °C	10 min 72 °C	40
Männijuurepess	15 min 95 °C	30 sek 95 °C	30 sek 66 °C	1 min 72 °C	10 min 72 °C	40
Külmaseen	10 min 94 °C	30 sek 94 °C	30 sek 70 °C	1 min 72 °C	7 min 72 °C	35
Verevnahkis	15 min 95 °C	30 sek 95 °C	30 sek 68 °C	1 min 72 °C	10 min 72 °C	35

#### 2.3.4. Gelelektroforees

PCR saadusi kontrolliti 1%-lises agarosgeelis, millesse lisati protokoll järgi TBE 0,5X, agarosi ning etiidiumbromiidi (EtBr). Agarosgeeli esimestesse geeliaukudesse lisati DNA ladderit (Naxo OÜ) ning järgnevatesse aukudesse lisati eelnevalt PCR-i meetodil saadud DNA. Positiivse DNA olemasolu ning uuritava lõigu pikkus määrati UV-kiirte transillumiinatsiooniga 21 Quantum ST4-3026/WL/25M (Vilber Lourmat SAS, Marne-la-Vallée) abil. Geelipildi töötlemiseks kasutati programmi Quantum ST4 Express v16, mille abil sai kindlaks teha uuritava seenpatogeeni liik proovides.

## 2.4 Statistiline analüüs

Statistilist analüüsi teostati programmidega MS Excel ja Statistica (Tibco, Software INC). Andmetöötlemisel koondati vajalikud tabelid programmis MS Excel ning edasine andmete töötlemine toimus programliga Statistica.

Statistilisel analüüsil koostati esmalt *gl* mudel, kus uuriti erinevate faktorite mõju juure- ja tüvemädanikele, faktorid on esitatud tabelis 2 ning mudelid koostati kasutades üldist lineaarset mudelit (GLM). Mudeli koostamisel võeti kasutusele kõik faktorid (vt. tabel 2), tulemuste tõlgendamisel kasutati saadud p-väärtuseid. Uuritavad väärtused mudelis olid kõik statistiliselt usaldusväärsed ( $p < 0,05$ ).

**Tabel 2.** Analüüsitavad faktorid mudelis

Uuritav faktor	Selgitus
Vanus	Puistu keskmine vanus
Vanuserühm	Vanuserühm jagatuna kaheks (81-100; 101+)
Vanuserühm 20 aasta kaupa	Puistu keskmine vanus 20 aasta grupina (näiteks: 81-100; 101-120 jne)
Vanuserühm 10 aasta kaupa	Puistu keskmine vanus 10 aasta grupina (näiteks: 81-90; 91-100 jne.)
Harvendusraie olemasolu	Harvendatud (1) või harvendamata puistu (0)
Kuuse diameeter, $D_{0,2}$	Üksikpuu diameeter kännu kõrgusel, cm
Puistu keskmine diameeter, $D_{0,2}$	Diameeter kännu kõrgusel, cm
Kahjustuse visuaalne hinnang	Tsentraalne või perifeerne mädanik proovis (1/0); tumenemise esinemine proovis (1/0)
Mädaniku tekitaja molekulaaranalüüsi järgne hinnang	Mädaniku tekitaja proovis, (1-mädanikuga/0- mädanikuta)
Kasvukohatüüp (kkt)*	Jänesekapsa, sinilille, naadi, jänesekapsa-mustika
Kuuse rinnaspindala	Ainult kuuskede rinnaspindala, $G_{ku}$ , m <sup>2</sup> /ha
Puistu rinnaspindala	Puistu keskmine rinnaspindala, $G$ m <sup>2</sup> /ha
Raiete arv	Puistus teostatud harvendusraied, raiet pole tehtud (0), üks raie (1), kaks raiet (2)**
Aeg esimesest raiest	Aeg esimesest harvendusraiest
Puistu koosseis	Puu liikide osakaal puistus, %
Mulla keemiline koostus	fosfori, kaaliumi ning magneesiumi sisaldus mullas
pH	mulla pH tase
Ajalooline maakasutus	Põline metsamaa kui enne 1900 aastat oli mets (1) või oli mitte-metsamaa (põld või niit) (0)
Juurepessu olemasolu	Juurepessu olemasolu proovis molekulaaranalüüsi põhjal (1/0)
Külmaseene olemasolu	Külmaseene olemasolu proovis molekulaaranalüüsi põhjal (1/0)
Juurepessu keskmine osakaal puistus (%)	Juurepessu keskmine esinemise osakaal uuritavas puistus, määratud molekulaaranalüüsi põhjal (%)

\*Mitte-numbriline väärtus. Kõik teised faktorid on numbrilise väärtusega.

\*\* Uuritavatel aladel ei ole teostatud üle 2 harvendusraie.

Visuaalse mädaniku tunnuse puhul analüüsiti enamlevinud mädaniku tekitajate (juurepess, külmaseen, verev nahkis) mõju koos. Eraldi analüüsid teostati juurepessu esinemisele, sest juurepessu määrati juurdekasvuproovidest oluliselt enam kui teisi mädanikutekitajaid.

### 3. TULEMUSED

Käesolevas magistritöös uuriti 59 hariliku kuuse enamusega puistus juure- ja tüvemädanike esinemise keskmist osakaalu puistus ning mädaniku tekitajate (juurepessu, külmaseene ja verev nahkise) esinemise hulka juurdekasvuproovides (Tabel 3). Kõikide analüüsitud kuuse enamusega puistute (harvendatud ja harvendamata) keskmine juuremädanike kahjude osakaal vanusevahemikus 81 – 206 on 42,2%, külmaseent leidis 3,3% ning verev nahkist mädaniku tunnustega proovidest ei tuvastatud.

Uuritud 30 alal oli varasemalt teostatud harvendusraie ning 29 ala olid teadaolevalt harvendamata (Tabel 3). Harvendatud aladel oli juurepessu, külmaseene ja verev nahkise poolt nakatunud puude osakaal keskmiselt 41,1% ning harvendamata aladel samade liikide poolt tekitatud mädaniku osakaal 43,3%. Võrreldes tulemusi vanusegruppide kaupa, siis 81-100 aastastes puistutes oli harvendamata (N = 15) puude mädaniku kahjutuse osakaal keskmiselt 39,4% ning harvendatud puistutes (N = 14) keskmiselt 35,1%. Vanusegrupis 101-206 oli harvendamata puistutes (N = 15) mädaniku poolt nakatunud puude osakaal 47,2% ja harvendatud puistutes (N = 15) oli mädaniku poolt nakatunud puude osakaal 46,7% (Tabel 3).

**Tabel 3.** Analüüsitud kuuse enamusega harvendatud ja harvendamata puistud vanusevahemikus 80 – 206 aastat

Jrk. Nr.	Ala kood	Puistu keskmine vanus (aastat)	KKT	Puistu koosseis (%)	Mädanike poolt nakatatud puude osakaal puistus (%)	Harvendatud (H)/harvendamata (MH)
1	EV150_5	81	JK	85KU5MA10KS	50,0	H
2	AK069_12	81	JK	85KU2MA13KS	25,0	H
3	KV167_10	81	JK	85KU10MA10KS	33,3	H
4	OP059_10	81	SL	50KU50MA	41,6	MH
5	TT045-2	81	JK	75KU15KS10HB	50,0	MH
6	EV012_18	82	SL	80KU5MA15KS	58,3	H
7	TT096_3	82	JK	100KU	58,3	H
8	VA062_4	82	JK	84KU1MA15KS	16,7	H
9	OP096_20	84	JK	95KU5KS	58,3	H
10	PM278_8	84	SL	60KU40KS	58,3	H
11	OP121_17	85	SL	90KU10MA	50,0	H
12	RG268_4	85	SL	95KU5MA	66,7	MH
13	Era19	85	JK	71KU1MA13KS10HB5LM	41,7	MH

14	OP099-14	85	JK	91KU3KS6HB	16,7	MH
15	PM168_37	86	JK	100KU	16,7	H
16	KV174_4	86	JK	89KU1LV3LM3KS4HB	25,0	H
17	OP074-7	86	JK	87KU1VA2LM1KS3SA6PN	33,3	MH
18	PM229-1	86	SL	78KU20KS2HB	16,7	MH
19	AA311_1	87	JK	65KU10MA15KS10HB	0,0	H
20	PE062-1	88	JK	81KU18MA1KS	83,3	MH
21	OP022_10	89	SL	70KU10MA20KS	66,7	MH
22	JS227-3	89	ND	60KU20PN10LM5KS5HB	0,0	MH
23	TT066-21	90	ND	70KU5LV20KS5HB	8,3	MH
24	KV176-8	92	JK	60KU38KS2MA	75,0	MH
25	TT242_12	94	JK	80KU20KS	41,7	MH
26	VA108_9	94	JK	80KU19KS1HB	25,0	MH
27	EV132_3	95	JK	60KU40MA	8,3	H
28	TT002-2	95	ND	75KU20KS5HB	25,0	MH
29	SV080_7	98	JK	60KU35MA5KS	33,3	H
30	VZ256-28	101	SL	75KU5MA20KS	66,7	MH
31	OP073-7	101	JK	78KU1LV1KS20HB	66,7	MH
32	KV091_25	102	JK	85KU10MA5KS	41,7	H
33	PW023_4	105	JK	85KU10MA5KS	75,0	H
34	PE117_7	105	JK	90KU10MA	58,3	H
35	TT033-15	105	ND	60KU40MA	16,7	MH
36	CK068-3	105	ND	77KU15MA5KS3HB	50,0	MH
37	KM018_6	106	JK	100KU	75,0	H
38	TT280_10	106	SL	100KU	25,0	H
39	KS235_16	107	JK	60KU39MA1KS	58,3	H
40	SV159_3	108	JK	95KU5HB	58,3	H
41	SP035_4	110	JK	95KU5KS	41,7	H
42	KM021_2	110	JK	90KU5KS5HB	33,3	H
43	RP141_8	112	JK	60KU20MA20KS	25,0	H
44	KS218_1	114	JK	70KU30MA	25,0	H
45	OP162_4	114	SL	90KU10MA	25,0	H
46	RP109_12	115	JK	65KU30MA5KS	41,7	H
47	OP099-11	115	JK	86KU7KS7HB	16,7	MH
48	JS242_6	117	ND	70KU20KS10HB	75,0	MH
49	SP130_1	120	JK	70KU30KS	58,3	H
50	TT075-13	120	JK	65KU15KS20HB	41,7	MH
51	TT075-14	120	JK	83KU2KS15HB	75,0	MH
52	OP045_27	123	SL	70KU30MA	41,7	MH
53	KJ078_27	131	JK	88KU8KS2MA2HB	58,3	H
54	AK068-7	131	JK	100KU	8,3	MH
55	TT217_2	134	JK	55KU45MA	91,7	MH
56	PE132-1	143	SL	80KU12HB5MA3KS	25,0	MH
57	VA105_1	154	JK-MS	90KU5VA5HB	66,6	MH
58	PM245_8	199	ND	55KU2MA2VA40KS1TA	41,7	MH
59	JS226-9	206	ND	77KU10KS5MA7HB1TA	25,0	MH

### 3.1 Mädaniku esinemine kuuse enamusega puistutes

Mädanike (tekitajad juurepess ja külmaseen) leviku hindamiseks kuuse enamusega puistutes koostati GL mudel (3.1), mille abil saab kirjeldada faktoreid, mis kirjeldavad ja mõjutavad mädaniku tekitajate levikut ja osakaalu. Mädaniku hinnangu aluseks on molekulaarnemäärang ehk DNA põhine tuvastamine, koostatud mudel on statistiliselt oluline ( $p < 0,001$ ;  $r^2 = 0,9039$ ).

(mädaniku hinnang (1/0))

$$\begin{aligned} &= b_0 + b_1 \cdot D + b_2 \cdot KU + b_3 \cdot MA + b_4 \cdot KS + b_5 \cdot HB \\ &+ b_6 \cdot pH + b_7 \cdot K + b_8 \cdot Mg + b_9 \cdot TM + b_{10} \cdot PM + b_{11} \\ &\cdot T + b_{12} \cdot RA \end{aligned} \quad (3.1),$$

kus D – puistu keskmine diameeter;

KU – kuuse koosseis puistus (%);

MA – männi koosseis puistus (%);

KS – kase koosseis puistus (%);

HB – haava koosseis puistus (%);

pH – mulla pH;

K – mulla kaaliumi sisaldus;

Mg – mulla magneesiumi sisaldus;

TM – visuaalselt nähtav tsentraalne mädanik 1, terve puu 0;

PM – visuaalselt nähtav perifeerne mädanik 1, terve puu 0;

T – visuaalselt nähtav tumenemine puidus 1, terve puu 0;

RA – raiete arv; kui harvendusraie on teostatud siis on 1, harvendamata juhul 0;

$b_1, \dots, b_{12}$  – mudeli põhjal koostatud valemi konstandid (Tabel 4).

Tabelis 4 on välja toodud mudeli põhjal koostatud valemis kasutatavad konstandid, nende hinnangud ning p-väärtused. Analüüsitud mudelil on tugev seos ( $r^2 = 0,9039$ ), standardhälbe (SE) väärtus on 0,1543. Mudeli parameetrite väärtused näitavad seda, et positiivsed parameetri hinnangud (Tabel 4) suurendavad mädaniku esinemise tõenäosust kuuse enamusega puistutes ning negatiivsed väärtused vähendavad mädanike esinemise tõenäosust

kuusikutes. Mudeli ja parameetrite p-väärtused näitavad parameetrite statistilist usaldatavust, kui usaldusnivoo on  $p > 0,05$ , siis mudelis ei ole antud väärtusi kasutatud. Kasutatud on mudelis vaid statistiliselt olulisi väärtusi ( $p < 0,05$ ).

Antud mudelist selgub, et kuuse enamusega puistutes mõjutavad mädaniku tekkimist enim järgmised faktorid: keskmine diameeter, männi ja kuuse osakaal puistus, kase ja haava osakaal puistus ning magneesiumi sisaldus mullas.

**Tabel 4.** Mudeli (3.1) konstandid

Valemi konstant	Konstandi hinnang	p-väärtus
$b_0$	0,825543	$< 0,001$
$b_1$	0,005986	$< 0,001$
$b_2$	0,004497	$< 0,001$
$b_3$	0,003638	$< 0,001$
$b_4$	0,004817	$< 0,001$
$b_5$	0,004922	$< 0,005$
$b_6$	-0,024404	$< 0,005$
$b_7$	-0,000323	$< 0,005$
$b_8$	0,000396	$< 0,005$
$b_9$	-0,450178	$< 0,001$
$b_{10}$	-0,429409	$< 0,001$
$b_{11}$	-0,434629	$< 0,001$
$b_{12}$	-0,113549	$< 0,001$
Kogu mudeli $r^2$	0,903911	
Kogu mudeli p väärtus	$p < 0,001$	
SE	0,1543	

Lisaks on välja toodud ka väärtused, mis vähendavad antud mudelis juuremädanike levikut puistus (tabel 4). Tsentraalse ja perifeerse mädaniku ning tumenemise puudumisel on juuremädanike esinemine kuuse enamusega puistutes väiksem. Harvendusraie või selle mitte toimumine mõjutab mudeli järgi juuremädanike levikule negatiivselt ehk vähendab juuremädanike leviku esinemise tõenäosust. Lisaks vähendavad juuremädanike levikut mulla pH ja kaaliumi sisaldus mullas.

Põline metsamaa või endine põllumaa ei olnud mädanike leviku seisukohast kuuse enamusega puistutes vanuses 81 – 206 aastat statistiliselt oluline ( $p = 0,643862$ ).



### 3.2 Juurepessu esinemise ja leviku hinnang

Juurepessu leviku hindamiseks teostati molekulaarsed analüüsid ehk tuvastati patogeen DNA põhiselt. Juurepessu leviku hindamiseks puistu vanuses 81-206 tehti GL mudel (3.2), mis kirjeldab, millised faktorid mõjutavad juurepessu esinemist ja osakaalu (%) enim, saadud mudel oli statistiliselt oluline ( $p < 0,001$ ;  $r^2 = 0,2785$ ).

*(juurepessu osakaal (%))*

$$\begin{aligned} &= a_0 + a_1 \cdot MA + a_2 \cdot KU + a_3 \cdot GKU + a_4 \cdot V + a_5 \cdot pH \\ &+ a_6 \cdot Mg + a_7 \cdot KS + a_8 \cdot JK + a_9 \cdot SL + a_{10} \cdot ND + a_{11} \\ &\cdot RA + a_{12} \cdot RA \end{aligned} \quad (3.2),$$

kus: MA – männi koosseis puistus (%);

KU – kuuse koosseis puistus (%);

GKU – kuuse rinnaspindala;

v – puistu keskmine vanus;

pH – mulla pH;

Mg – mulla magneesiumi sisaldus;

KS – kase koosseis puistus (%)

JK – kui on jänesekapsa kasvukohatüüp siis on 1, teised kasvukohad 0;

SL – kui on sinilille kasvukohatüüp siis on 1, teised kasvukohad 0;

ND – kui on naadi kasvukohatüüp siis on 1, teised kasvukohad 0;

RA – raiete arv, kui harvendusraie teostatud 1, kui harvendusraie teostamata siis 0;

$a_1, \dots, a_{12}$  – mudeli põhjal koostatud valemi konstandid (Tabel 5).

Tabelis 5 on välja toodud eelnevalt kirjeldatud mudeli põhjal saadud, konstandid, konstandi hinnangud ning p-väärtused. Negatiivsete hinnangutega parameetrid vähendavad antud mudelis juurepessu levik riski ning positiivsed hinnangud näitavad, millised faktorid suurendavad juurepessu leviku riski. Mudeli ja parameetrite p-väärtused on välja toodud, et võrrelda nende statistilist olulisust, kui  $p > 0,05$  siis mudelis ei ole antud väärtusi kasutatud.

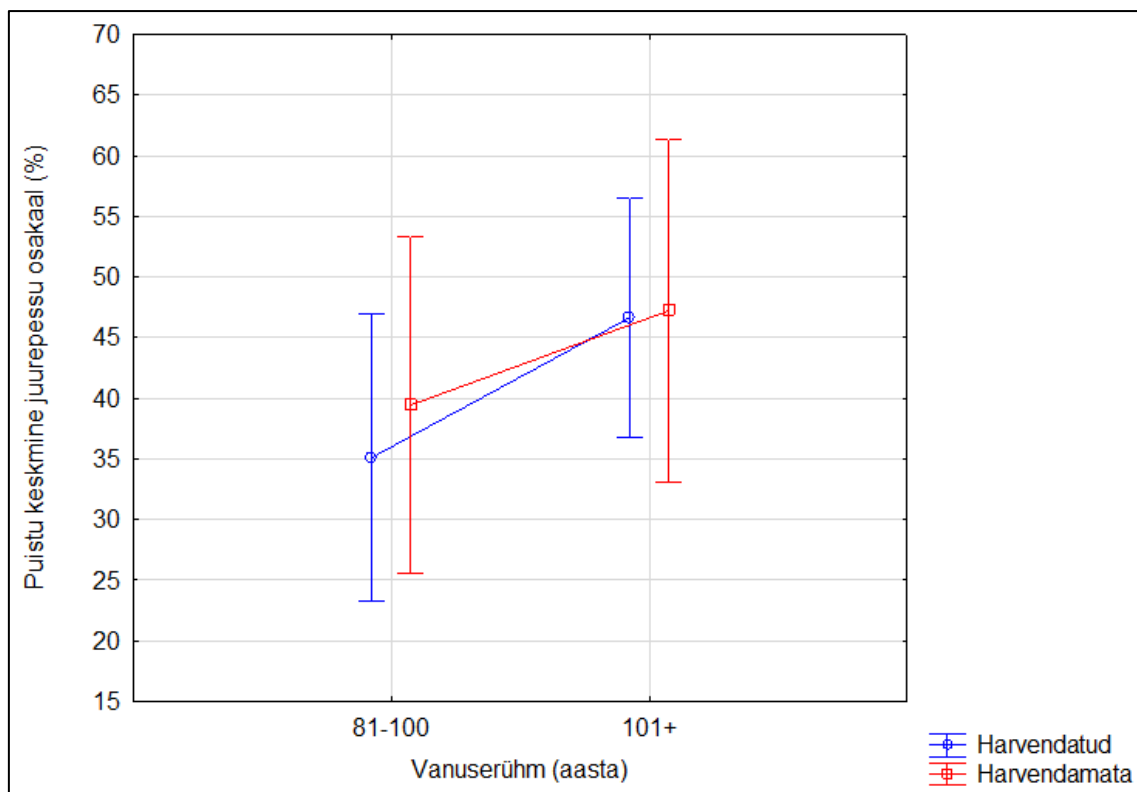
**Tabel 5.** Mudeli (3.2) konstandid

Valemi konstant	Konstandi hinnang	p-väärtus
a <sub>0</sub>	-9,72039	> 0,05
a <sub>1</sub>	0,77019	< 0,001
a <sub>2</sub>	0,74007	< 0,001
a <sub>3</sub>	-0,67353	< 0,001
a <sub>4</sub>	-0,20919	< 0,001
a <sub>5</sub>	9,88085	< 0,001
a <sub>6</sub>	-0,06519	< 0,001
a <sub>7</sub>	0,37657	< 0,001
a <sub>8</sub>	-8,74371	< 0,001
a <sub>9</sub>	-9,92686	< 0,001
a <sub>10</sub>	-1,17042	> 0,05
a <sub>11</sub>	6,30400	< 0,005
a <sub>12</sub>	-4,47140	< 0,005
Kogu mudeli r <sup>2</sup>	0,2785	
kogu mudeli p-väärtus	p<0,001	
SE	19,1415	

Antud mudelist selgub, et kuuse enamusega puistutes suurendavad juurepessu kahjustuse tõenäosust enim järgmised faktorid: kuuse ja männi koosseis (%) puistus, mulla pH ning kase koosseis (%) puistus. Juurepessu levikule oli antud mudelis negatiivne mõju järgmistel tunnustel: harvendusraie teostamine puistus, sinilille kasvukohatüüp, jänese kapsa kasvukohatüüp, magneesiumi sisaldusel mullas, puistu vanusel ja kuuse rinnaspindala. Naadi kasvukohatüüp ei mõjutanud juurepessu levikut antud puistus(p=0,681928) ehk tulemus ei ole statistiliselt oluline.

### 3.3 Raiete ja vanuse mõju juurepessu levikule ja osakaalule

Erinevate faktorite mõju hindamisel analüüsiti harvendusraiete ja vanusegruppide mõju juurepessu levikule. Juurepessu osakaal harvendatud ja harvendamata puistutes on esitatud vastavalt vanusegruppidele (Joonis 6).

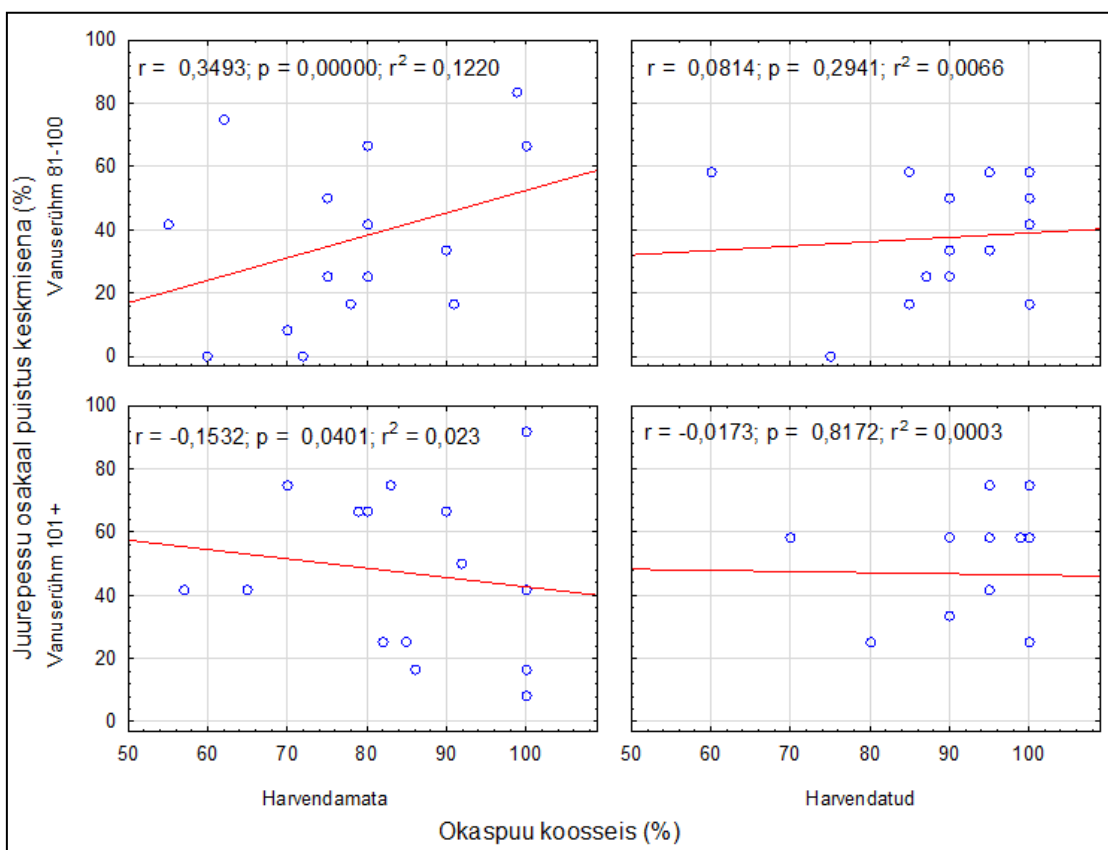


**Joonis 6 .** Juurepessu osakaal harvendatud ja harvendamata puistutes vanusegruppide kaupa

Juurepessu kahjustuse osakaalu ja puistu vanuse vahel on statistiliselt oluline erinevus ( $p < 0,0001$ ) ehk mida vanem on puistu, seda oluliselt enam on kuusikus juurepessu nakkust. Kuid harvendamata ja harvendatud puistutes ei olnud juurepessu esinemisel ja levikul statistiliselt olulist erinevust ( $p = 0,86$ ). Seega, analüüsitud vanusegruppides (81-100 ning 101 ja enam) ei ole juurepessu levikul otseselt seost teostatud raietega.

### 3.4 Juurepessu osakaalu sõltuvus okaspuu koosseisust puistus

Juurepessu osakaalu sõltuvust okaspuu (kuusk ja mänd) koosseisust on võrreldud hajuvusdiagrammidel, kus on eraldi analüüsitud harvendatud ja harvendamata puistusi ning vanusegruppide mõju (Joonis 7).



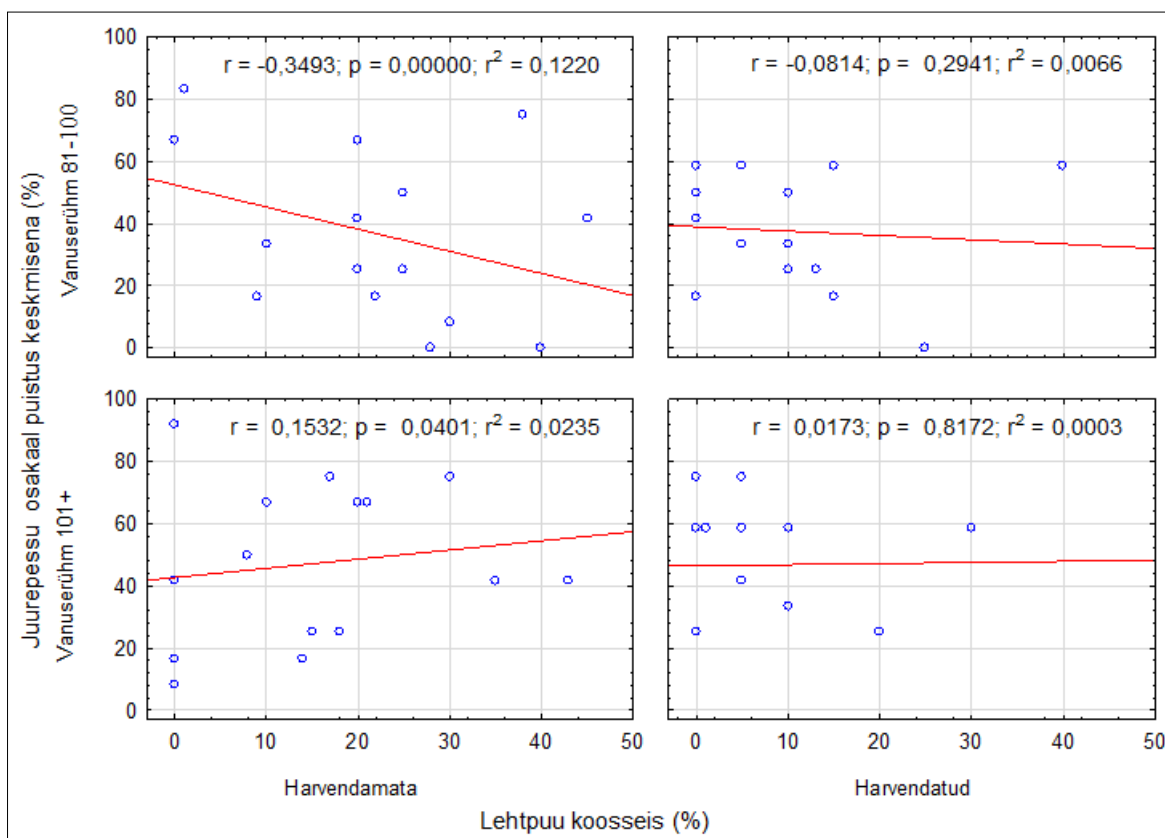
**Joonis 7.** Juurepessu osakaalu sõltuvus okaspuu koosseisust harvendamata ja harvendatud kuuse enamusega puistustes vanuserühmade kaupa

Harvendamata puistustes vanusegrupis 81-100 kasvab okaspuu (kuusk ja mänd) osakaalu suurenedes ka juurepessu osakaal puistus, kahe tunnuse vahel on statistiliselt oluline positiivne korrelatsioon ( $r=0,3493$ ;  $p<0,0001$ ). Kuid harvendamata kuusikus ja vanusegrupis 101+ on tulemus vastupidine, okaspuu osakaalu suurenemisel väheneb juurepessu esinemise osakaal ( $r=-0,1532$ ;  $p=0,0401$ ), seos on tagasihoidlik, aga statistiliselt oluline. Harvendamata puistutes vanuses üle 100 aasta on tulemused statistiliselt mitteolulised ( $p > 0,05$ ). Harvendatud kuuse puistutes ei ole saadud tulemustest statistiliselt olulised ning

seosed mõlemas vanusegrupis on nõrgad (vt. Joonis 7).

### 3.5 Juurepessu osakaalu sõltuvus lehtpuu koosseisust puistuses

Juurepessu osakaalu sõltuvust lehtpuu osakaalust võrreldi hajuvusdiagrammidel, kus on esitatud seosed harvendatud ja harvendamata puistutes eraldi (Joonis 8).



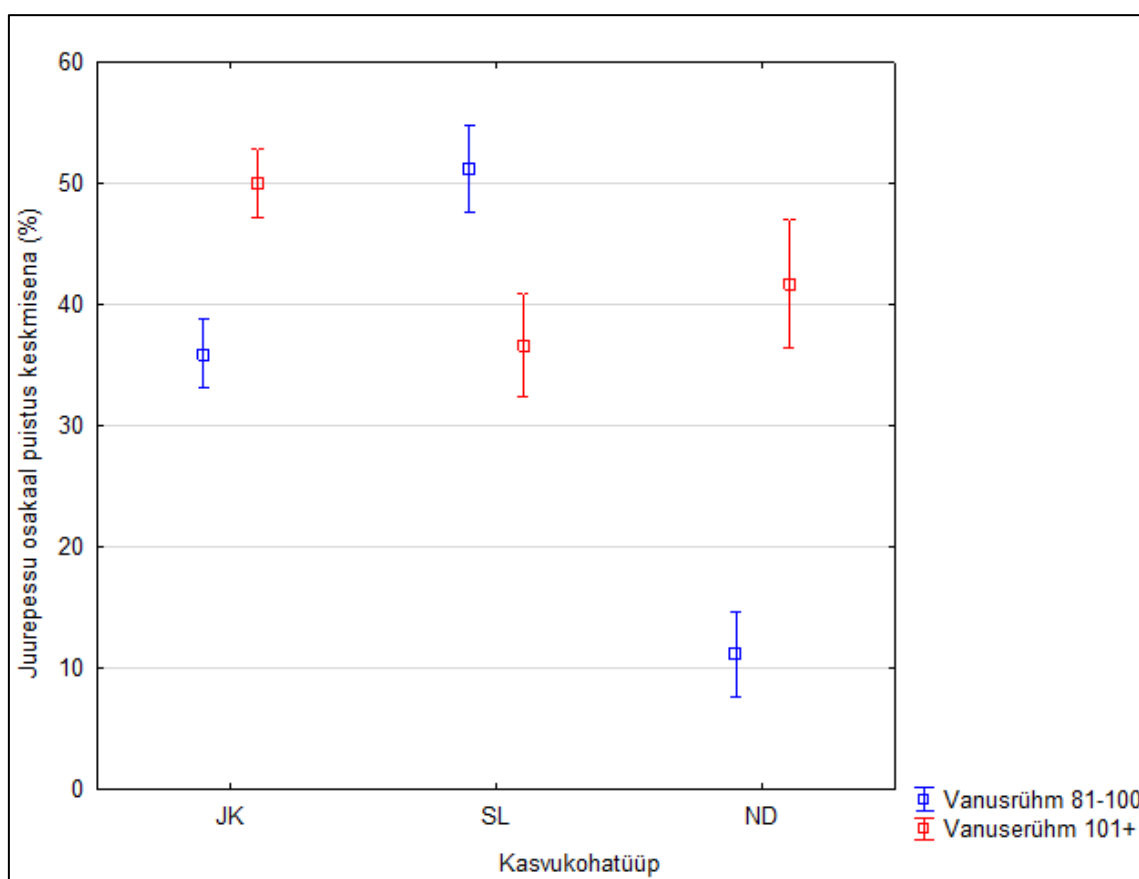
**Joonis 8.** Juurepessu osakaalu sõltuvus lehtpuu osakaalust harvendamata ja harvendatud kuuse enamusega puistutes

Harvendamata puistutes on seosed juurepessu ja lehtpuu osakaalu vahel statistiliselt olulised. Vanusegrupis 81-100 väheneb lehtpuu osakaalu suurenemisel juurepessu osakaal puistus ( $r=-0,3493$ ;  $p<0,0001$ ) ning vanusegrupis 101+ on see vastupidine, lehtpuu osakaalu suurenemisel suureneb ka juurepessu osakaal ( $r=0,1532$ ;  $p<0,05$ ), seos on nõrk, kuid oluline. Harvendatud puistutes on seosed nõrgad ning ei ole statistiliselt olulised, vanusegrupis 81-100 on lehtpuu osakaalu suurenemisel näha, et juurepessu osakaal langeb ( $r=-0,0814$ ;  $p=0,2941$ ) ning vanusegrupis 101+ on tulemus vastupidine, lehtpuu osakaalu suurenemisel

suureneb ka juurepessu osakaal ( $r=0,0173$ ;  $0,8172$ ), kuid seosed on väga nõrgad ja statistiliselt mitteolulised.

### 3.6 Juurepessu levik erinevates kasvukohatüüpides

Kasvukohatüüpidest olid valimis jänesekapsa, naadi, sinilille ja jänesekapsa-mustika kasvukohatüübid. Keskmine juurepessu osakaal erinevates kasvukohatüüpides toodi välja jänesekapsa ( $N=38$ ), sinilille ( $N=12$ ) ja naadi ( $N=8$ ) kasvukohatüüpide kohta, kuna jänesekapsa-mustika kasvukohatüübi puistuid oli valimis üks puistu ning seetõttu jäeti jänesekapsa-mustika ala analüüsist välja. Keskmine juurepessu osakaal puistus kasvukohatüüpide kaupa vastavalt vanuserühmadele on toodud joonisel 9.



**Joonis 9.** Juurepessu osakaalu sõltuvus kasvukohatüübist

Kolme kasvukohatüübi ja juurepessu keskmise osakaalu vahel oli statistiliselt oluline seos mõlemas vanusegrupis 81-100 ( $p<0,0001$ ) ning 101+ ( $p<0,0001$ ) (Joonis 9). See tähendab,

et kõikidel kasvukohatüüpidel oli juurepessu esinemise ulatus erinev. Jänesekapsa kasvukohatüübi puistutest vanusegrupis 81-100 määrati juurepessu olemasolu 19 puistus ning keskmiselt 36% puudest olid nakatunud. Vanusegrupis 101+ oli jänesekapsa kasvukohatüübi puistuid 19 ning juurepessu määrati keskmiselt 50% puudelt. Sinilille kasvukohatüübi puistused olid vanusegrupis 81-100 seitse ning juurepessu esinemine määrati keskmiselt 51% puudelt ning vanusegrupis 101+ ja enam oli sinilille kasvukohatüübi puistused viis ning juurepessu leviku keskmine osakaal oli 36,6%. Naadi kasvukohatüübi puistused oli vanusegrupis 81-100 kolm puistut ning juurepessu esinemist määrati keskmiselt 11,1% puudelt ning vanusegrupis 101+ ja enam oli valimis viis naadi kasvukohatüübi puistut ning juurepessu poolt olid nakatunud keskmiselt 41,1% puudest.

### 3.7 Teised mädanikutekitajad kuuse enamusega puistutes

Uue põlvkonna sekveneerimise tulemustest saadi lisaks juurepessule ja külmaseenele ka teisi mädanikutekitajaid puiduproovidest (N=32 puiduproovi). Tabelis 6 on toodud liigid, mida leidis uuritavates proovides kõige rohkem, lisaks on tabelis esitatud puistu vanus ning puistus teostatud harvendussraie (H) või oli puistu harvendamata (MH).

**Tabel 6.** Teised mädanikutekitajad kuuse proovides võrreldes enamlevinud mädaniku tekitajatega

Mädaniku tekitaja	Puistu keskmine vanus (a)	Majandamisviis, harvendatud (H)/ harvendamata (MH)
<i>Onnia tomentosa</i>	105	H
<i>Onnia tomentosa</i>	154	MH
<i>Fomitopsis pinicola</i>	85	MH
<i>Fomitopsis pinicola</i>	95	H
<i>Fomitopsis pinicola</i>	105	H
<i>Fomitopsis pinicola</i>	154	MH
<i>Antrodia serialis</i>	95	H
<i>Antrodia serialis</i>	154	MH
<i>Antrodia serialis</i>	154	MH

Kõige enam määrati järgmiseid mädanikutekitajaid: jalg-jänesepäss (*O. tomentosa*), kännupess (*F. pinicola*) ning kuusekorgik (*A. serialis*). Jalg-jänespassi määrati kokku kahest puiduproovist (6,25%) harvendatud ja harvendamata puistutest, vanuses 105 ja 154 aastat. Kännupess määrati nii harvendatud kui harvendamata puistutest neljal puul (12,5%)

vanusevahemikus 85-154 aastat. Kuusekorgikut määrati kolmest (9,375%) juurdekasvuproovist, millest üks puistu oli harvendatud ning kaks harvendamata, puistute keskmised vanused olid 95 ning 154 aastat. Juurepessu leiti antud 32 puiduproovi uurimisel 28 puiduproovist ehk 87,5% proovidest olid nakatunud.



## 4. ARUTELU

Magistritöös uuriti 59 kuuse enamusega puistut vanusevahemikus 81-206 aastat. Magistritöö eesmärgiks oli uurida hariliku kuuse enamusega puistute tervislikku seisundit erinevates vanusegruppides (s.o. 81-100 ja 101+) ning harvendatud ja harvendamata puistutes. Uuritavate puistute keskmine juurepessu kahjustuse osakaal vanusevahemikus 81-206 on 42,2%, külmaseent tuvastati vaid juurepessuga nakatunud puudest (kokku 3,3%) ning verev nahkist ei esinenud üheski proovis. Mädanike ja vanusegrupi mõju analüüsimisel selgus, et mädaniku osakaalul ja puistu vanusel on statistiliselt oluline seos ( $p < 0,0001$ ), mis viitab asjaolule, et vanemas eas (101+) on kuusikutes juurepess oluliselt enam levinud ja mädaniku osakaal suurem. Vanusegrupis 81-100 tuvastati mädanike poolt nakatunud puude osakaaluks harvendatud aladel keskmiselt 35,1% ning harvendamata aladel samas vanusegrupis 39,4%. Vanusegrupis 101+ selgus, et harvendatud puistutes on mädanike poolt nakatunud puude osakaal 46,7% ning harvendamata puistutes 47,2% (vt tabel 3, joonis 6). Antud juhul leiab püstitatud hüpotees kinnitust, et vanemad kuusikud on kõrgema mädanike kahjustuse riskiga (Müller jt 2018).

Mädaniku tekitajate (külmaseen ja juurepess) uurimiseks koostatud statistilise hinnangu põhjal selgus, et kuuse enamusega puistutes mõjutavad mädanike levikut enam puistu keskmine diameeter, männi ja kuuse osakaal puistus, kase ja haava osakaal puistus ning magneesiumi sisaldus mullas (3.1). Kirjanduse põhjal (Pukkala jt 2005) mõjutab juuremädanike levikut puistu keskmise diameetri suurenemine ehk mida kõrgem on puistu keskmine diameeter, seda rohkem võib puistus olla juuremädanikke. Lisaks mõjutab juuremädanike levikut okaspuu (kuusk ja mänd) osakaal puistus, kuuse ja männi osakaalu kasvamisel suureneb ka juuremädanike leviku tõenäosus puistus (Fahlvik 2005).

Juurepessu esinemise ja leviku hinnanguks koostatud mudelist (3.2) selgus, et juurepessu levikut mõjutavad kuuse ja männi koosseis (%) puistus, mulla pH ning kase koosseis (%) puistus. Juurepessu uurimisel on tulemused veidi erinevad võrreldes juuremädanike uurimisega üldisemalt. Juurepessu levikut suurendab ka mulla pH ehk aluselisel mullal levib juurepess paremini kui happelisel mullal (Maijala jt 1995). Sama tulemust kinnitas oma uuringus ka Hanso ja Hanso (1999a). Samas, mulla keemilistest ühenditest vähendavad juurepessu levikut suurem fosfori, kaaliumi ja magneesiumi sisaldus mullas. Analüüsi ka

maakasutuse (põline metsamaa või endine põllumaa) mõju juurepessu levikule, kuid statistiliselt olulisust seost ei tuvastatud ( $p=0,643862$ ). Seega ei saa väita, et põllu või heinamaale kasvanud kuusikud oleksid enam juurepessust kahjustatud. Seda tulemust ei saa lugeda siiski lõplikuks, sest põllumaal kasvanud puistute valim oli väike ( $N=2$ ) võrreldes endise metsamaa puistutega ( $N=57$ ).

Tulemusi võrreldes selgub, et nooremas vanusegrupis on harvendamata puistutes juurepessu levik madalam kui harvendatud puistutes, kuid vanusegrupis 101+ on olukord vastupidine - harvendatud puistutes esineb juurepessu vähem kui harvendamata aladel. Erinevused on minimaalsed, kuid põhjuseks võib olla asjaolu, et haiged puud on eelnevate raiete käigus puistu koosseisust välja raiutud (Korhonen jt 1998). Analüüsides harvendamata ja harvendatud puistutes juurepessu levikut (vt. Joonis 6), siis puudub statistiliselt oluline erinevus ehk juurepessu levik vanusegrupis 81-100 ning 101+ puistutes on sama nii raiutud kui raiumata proovialadel ( $p > 0,05$ ). Sellest lähtuvalt võib pidada tõestatuks hüpoteesi, et raiumata ja raiutud kuusikutes on juure- ja tüvemädanike kahjustuse osakaal sarnane.

Teadaolevalt on raied soojal ajal kõrge juuremädanike riskiga (Hanso ja Hanso 1999a). Käesolevas töös analüüsitud puistute kohta on teada, kas harvendusraied on teostatud või mitte, kuid arvestades puistute vanust, ei olnud kättesaadavad andmed harvendusraiete sesoonsuse kohta (talvised või suvised raied), seega polnud võimalik testida raieaja mõju juurepessu levikule. Raiete sesoonsus on kahtlemata oluline küsimus edasistes mädanike kahjustuste analüüsis.

Juurepessu osakaalu sõltuvust okaspuu koosseisust uuriti vanusevahemike kaupa ning harvendatud ja harvendamata puistutes eraldi. Analüüsides selgub, et okaspuu osakaalu sõltuvus juurepessu osakaalust on statistiliselt oluline harvendamata puistutes vanusegrupis 81-100 ( $p<0,0001$ ) ja 101+ aastat ja enam ( $p=0,0401$ ) (Joonis 7). Harvendatud puistutes olid seosed juurepessu kahjustuse ja okaspuu koosseisu vahel väga nõrgad ning vanusegrupis 81-100 ( $p=0,2941$ ) ja 101+ ( $p=0,8172$ ) ei olnud tulemused statistiliselt olulised. Harvendamata puistutes vanusegrupis 81-100 selgub, et antud tunnuste vahel on statistiliselt oluline positiivne korrelatsioon ( $r=0,1220$ ) ehk okaspuu osakaalu kasvades suureneb ka juurepessu osakaal puistus keskmisena (Joonis 7). Analüüsi tulemusel saab kinnitust fakt, et puhtpuistute kasvatamisel tuleb arvestada sellega, et mida enam on puistu koosseisus samaliigilisi puuliike, eriti harilikku kuuske, seda enam on puudel omavahelisi juurekontakte ning juurepessu levik võib kujuneda intensiivseks (Piri jt 1990). Vanusegrupis 101+ näitavad tulemused vastupidiselt negatiivset korrelatsiooni ( $r=-0,1532$ ) ning selgub, et antud aladel

väheneb juurepessu osakaal okaspuu koosseisu suurenedes (Joonis 7). See võib tähendada seda, et selles vanuses mädaniku nakkusega kuused on puistu koosseisust välja langenud. Lehtpuu osakaalu mõju juurepessu levikule uuriti samuti harvendamata ja harvendatud puistutes eraldi vanusegruppide kaupa. Lehtpuu osakaalu sõltuvus juurepessu levimisele harvendatud puistutes ei olnud statistiliselt oluline vanusegrupis 81-100 ( $p=0,291$ ) ja vanuses üle 100 ( $p=0,8172$ ). Harvendamata aladel saadud tulemused olid statistiliselt olulised vanusegrupis 81-100 ( $p=0,0001$ ) ning vanusegrupis üle 100 aasta ( $p=0,0401$ ). Harvendamata aladel kuusikutes vanusgrupis 81-100 uurimisel selgub, et lehtpuu osakaalu suurenemisel väheneb ka juurepessu keskmine osakaal puistus ( $r=-0,3493$ ). Suurem lehtpuu osakaal puistu koosseisus vähendab juurepessu esinemist (vt joonis 8) ning parandab puistu tervislikku seisundit (Piri jt 1990). Vastupidine olukord oli kuusiku vanuses üle 100 aasta, kus puistu tervislik seisund ei parane lehtpuu osakaalu suurenedes ( $r=0,1532$ ;  $p<0,0001$ ), mis võib olla tingitud puistute kõrgest vanusest, kus puistu sanitaarne seisund on selline, kus lehtpuu osakaal puistu koosseisus ei oma juurepessu pärssivat mõju. Üldiselt on teada, et lehtpuu osakaalu kasvades vähendab juurepessu levik (Hanso ja Hanso 1999a). Seda kinnitavad ka käesoleva töö tulemused, kus vanusegrupis 81-100 lehtpuu osakaalu kasvades kahaneb juurepessu osakaal (Joonis 8), kuid vanusegrupis 101+ pigem suurendab lehtpuu koosseis juurepessu osakaalu puistus. See võib olla tingitud sellest, et lehtpuu osakaal on vaid ühes hinnatud puistus enam kui 40%, teistes kõikides analüüsitud puistutes enamasti alla 30%. Ilmselt selline lehtpuu koosseis enam kui 100 aastastes puistutes ei ole juurepessu levikule takistuseks.

Kasvukohatüüpidest analüüsiti naadi, jänesekapsa ja sinilille alasid (Joonis 9). Kasvukohatüübi ja juurepessu leviku vahelised tulemused olid statistiliselt olulised ( $p<0,001$ ). Kasvukohatüüpide analüüsimisel selgus, et vähem leidis juurepessu naadi kasvukohatüübi 81-100 aastastes kuusikutes (11,1%). Vanusegrupis 101+ ja enam leidis naadi kasvukohatüübis juurepessu juba enam, 41,1%. Jänesekapsa kasvukohatüübi kuusikutes määrati vanuserühmas 81-100 aastat juurepessu osakaaluks 36% ning vanuserühmas 101+ oli nakatunud 50% puudest. Kõige enam leidis juurepessu sinilille kasvukohatüübi puistutes, kus vanusegrupis 81-100 olid nakatunud 51% ning vanuserühmas 101+ oli nakatunud 36,6% puudest. Sinilille kasvukohatüüp on kõrge mullaviljakusega ja harilikule kuusele kasvuks sobilik, kuid vältima peaks puhtkuusikute kasvatamist antud kasvukohatüübis, kuna antud kasvukohas on kuusikud halva sanitaarse seisundiga eelkõige juurepessu kahjustuste tõttu. Vanemates puistutes (70-aastat ja rohkem) võib tuvastada tervisliku seisundi tõttu tugevat juurdekasvu langust (Lõhmus 2004).

Lisaks juurepessule ja külmaseenele tuvastati uue põlvkonna sekveneerimise andmestikust informatsiooni teiste võimalike mädanikutekitajate kohta harilikul kuusel. Kõige enam tuvastati kolme mädanikutekitajat: jalg-jänespäss, kännupess ning kuusekorgik (Tabel 6). Teisi mädanikutekitajaid leiti enamasti puistutest, mille vanus oli üle 100 aasta, mis näitab, et kuuskede tervisliku seisundit võivad mõjutada ka teised liigid peale juurepessu. Jalg-jänespässi leiti valimist (32 puiduproovist) 6,25% puiduproovidest, kännupessi 12,5% ning kuusekorgikut 9,375%. Juurepessu leiti antud valimist (32 puiduproovist) 87,5% proovidest. Kuna puud olid mädaniku nakkusega ja juurepessu poolt nõrgestatud siis teised mädaniku tekitajad võivad olla sekundaarsed ja nakatasid puid juurepessu järel. Seda sellepärast, et ühelgi juhul mädaniku tekitajaks ei olnud teised tekitajad ilma juurepessuta.

Tulemusi analüüsides selgub, et kuusikute sanitaarne seisund viljakate kasvukohatüüpide puistutes vanusest alates 81+ halveneb, sest mädaniku kahjude osakaal on 42,2% kuusikutes vanusevahemikus 81 – 206 aastat.

Kuusikute seisundit mõjutavad: okaspuu (kuusk, mänd) koosseis (%), lehtpuu (kask, haab) koosseis (%), puistu keskmine diameeter, mulla pH ja toitained, puistu vanus ja raied. Tulemuste põhjal selgub, et kuusikutes, mille vanus on vahemikus 81-206 aastat ei ole majandamine (s.o raied) üksi mädanike suurema riski põhjus. Sarnasele tulemusele jõuti ka vastavas uuringus Soomes (Müller jt 2018), kus selgus, et juuremädanike risk suurenes puistute vananedes ning metsade majandamine ei ole ainus otsene juuremädanike leviku põhjustaja.

## KOKKUVÕTE

Lõputöös uuriti kokku 59 puistut, kus kuuse osakaal oli üle 50%. Igalt alalt koguti juurdekasvupuuri abil puiduproovid 12 puult, kokku N=708 juurdekasvuproovi. Kogutud juurdekasvuproovidele tehti esialgu visuaalne mädaniku hinnang ning seejärel teostati laboratoorsed DNA analüüsid mädaniku tekitajate (juurepess, külmaseen, verev nahkis) määramiseks. Teostati statistiline analüüs, et selgitada millised faktorid on olulisemad juuremädanike ning juurepessu levimiku seisukohalt.

Magistritöö eesmärk oli uurida juuremädanike levikut hariliku kuuse viljakate kasvukohatüüpide (naadi, sinilille, jänesekapsa) puistutes vanusevahemikus 80-206 aastast. Tulemustest selgus, et kuusikute tervislik seisund halveneb vanuse suurenedes. Juuremädanikest uuriti verev nahkist, juurepessu ja külmaseent, juurepessu leidis kõikidest proovidest kokku 42,2%, külmaseent 3,3% ning verev nahkise esinemist ei tuvastatud. Juuremädanike levikut mõjutas uuritavates puistutes keskmine diameeter, männi ja kuuse keskmine osakaal ning kase ja haava keskmine osakaal puistus, antud faktorite mõjul suurenes juuremädanike levik. Eraldi juurepessu uurides selgus, et juurepessu levikut suurendas kuuse ja männi koosseis, mulla pH tase ning kase osakaal puistus. Eraldi uuriti veel harvendatud ja harvendamata alasid vanusegrupis 81-100 ning 101+ aastat. Võrreldes kahte vanusevahemikku omavahel selgus, et nooremas vanusegrupis määrati juuremädanikke vähem kui vanemas vanusegrupis, vanusegrupis 101+ määrati juurepessu enam harvendamata aladel, kuid vanusegrupis 81-100 leidis juurepessu rohkem harvendatud aladel.

Puistu koosseisu mõju puhul uuriti nii okaspuu kui lehtpuu osakaalu mõju juurepessu levikule. Okaspuu koosseisu uurimise tulemusena selgus, et harvendamata aladel olid tulemused statistiliselt olulised, harvendatud aladel statistiline olulisus puudus. Harvendamata aladel vanusegrupis 81-100 okaspuu koosseisu suurenedes, kasvab ka juurepessu osakaal, samal ajal vanusegrupis 101+ juurepessu osakaal väheneb. Lehtpuu osakaalu analüüsimisel selgus, et harvendamata aladel olid statistiliselt olulised tulemused: vanusegrupis 81-100 vähenes juurepessu osakaal, vanusegrupis 101+ juurepessu osakaal suurenes. Harvendatud puistutes statistilist olulisust ei esinenud.

Kasvukohatüüpidest oli sinilille kasvukohatüübi puistutes juurepessu osakaal kõige suurem,

vanusegrupis 81-100 oli nakatunud 50% puudest ning 101+ vanusegrupis 36,6% puudest. Naadi kasvukohatüübis leidis vanusegrupis 81-100 juurepessu kõige vähem, 11,1%, kuid vanusegrupis 101 ja enam oli naadi kasvukohatüübi puistutes juba juurepessu keskmine levik 41,1%. Jänesekapsa kasvukohatüübi puistute analüüsil selgus, et vanusegrupis 81-100 leidis juurepessu 36% ning vanusegrupis 101+ aastat 50%. Lisaks uuriti ka teisi mädanikutekitajaid puistus ning levinumad liigid olid jalg-jänesepäss, kännupess ning kuusekorgik.

Tulemustest selgus, et hariliku kuuse puistud viljakates kasvukohatüüpides vanuses 81-206 on halva sanitaarse seisundiga ning harvendusraiate teostamine ei ole ainus puistute sanitaarset seisundit mõjutav faktor. Lisaks harvendusraiate teostamisele on veel mitmeid faktoreid, mis suurendavad juurepessu levikut hariliku kuuse puistes.

## KASUTATUD KIRJANDUS

- Aastaraamat Mets 2017.** (2018). Tartu. Keskkonnaagentuur. 138 lk.
- Arnerup J., Swedjemark G., Elfstrand M., Karlsson B., Stenlid J.** (2010). Variation in growth of *Heterobasidion parviporum* in a full-sib family of *Picea abies*. Scandinavian Journal of Forest Research. Volume 25: pp. 106-110.
- Barratt B.I.P., Howarth F.G., Withers T.M., Kean J.M., Ridley G.S.** (2010) Progress in risk assessment for classical biological control. Biological Control 52: pp. 245–254.
- Bendz-Hellgren M., Lipponen K., Solheim H., Thomsen I.** (1998). Impact, control and management of *Heterobasidion annosum* root and butt rot in Europe and North America. *Heterobasidion annosum* biology, ecology, impact and control. Edited by: Woodward S, Stenlid J, Karjalainen R, Hüttermann A. Wallingford. CAB International, pp. 333-345.
- Drenkhan, R., Solheim, H., Bogacheva, A., Riit, T., Adamson, K., Drenkhan, T., Maaten, T., Hietala, A. M.** (2017). *Hymenoscyphus fraxineus* is a leaf pathogen of local *Fraxinus* species in the Russian Far East. Plant Pathology volume 66, pp. 490–500.
- Fahlvik, N.** (2005). Aspects of precommercial thinning in heterogeneous forests in Southern Sweden. Alnarp: Swedish University of Agricultural Sciences. Volume 68, 38 p.
- Fjodorov, M.** (2017). Juuremädanike esinemine ja võrdlev analüüs harvendusraiete järgsetes kuusikutes. Eesti Maaülikool. Tartu. 35 lk.
- Fox, R.T.V.** (2000). *Armillaria* Root Rot: Biology and Control of Honey Fungus. Andover, UK: Intercept Press. 240 p.
- Garbelotto, M., Gonthier, P.** (2013). Biology, Epidemiology, and Control on *Heterobasidion* Species Worldwide. – The Annual Review of Phytopathology. Vol. 51, pp. 39-59.
- Hallaksela, A.-M.** (1984). Causal agents of butt-rot in Norway spruce in Southern Finland. – Silva Fennica. Volume 18, pp. 237–243.
- Hanso, M., Drenkhan, T.** (2005). Seenega seene vastu. -*Eesti Loodus*, 1, lk 16-19.
- Hanso, M., Õunap, H.** (2016). Olulisemad metsakahjustused ja nende vältimine. Tartu: SA Erametsakeskus. 44 lk.
- Hanso, S., Hanso, M.** (1999a). Juurepessu levimisest Eesti metsades. - Metsanduslikud uurimused 31, lk 162-172.
- Hanso, S., Hanso, M.** (1999b). Andmeid juuremädanike tekitajate kohta Eesti metsadest. – Metsanduslikud uurimused 31, lk 141-161.
- Hantula, J., Vainio, E.** (2003). Specific primers for the differentiation of *Heterobasidion annosum* (s.str.) and *H. parviporum* infected stumps in Northern Europe. – Silva Fennica, 37 (2), pp.

- Heinaru, A.** (2012). Geneetika. Õpik kõrgkoolile. Tartu Ülikooli kirjastus. 1135 lk.
- Holdenrieder, O., Greig, B.J.W.** (1998) Biological methods of control. *Heterobasidion annosum*: Biology, Ecology, Impact and Control (Woodward S, Stenlid J, Karjalainen R & Huttermann A, eds). CAB International, Wallingford, Inglismaa, pp. 235–258.
- Isomäki, A., Kallo, T.** (1974). Consequences of injury caused by timber harvesting machines on the growth and decay of spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). Acta Forestalia Fennica no. 136, 25 p.
- Kallio, T.** (1965). Tutkimuksia maannousemasien leviämisbiologiasta ja torjuntamahdollisuuksista Suomessa. – Acta Forestalia Fennica, 78, pp. 1–21.
- Keca, N.** (2005). Characteristics of *Armillaria* species development and their growth at different temperatures. Belgrad Faculty of Forestry 05, 91, pp. 149–162.
- Korhonen, K., Delatour, C., Greig, B.J.W., Schönhart, S.** (1998). Silvicultural control. In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R., Huttermann, A. (Eds.), *Heterobasidion annosum*: Biology, Ecology, Impact and Control. CAB International, Wallingford, UK, pp. 283–313.
- Kubiak, K., Zólcik, A., Damszel, M., Lech, P., Sierota, Z.** (2017). *Armillaria* Pathogenesis under Climate Changes. Forests 2017 volume 8 (4), 100 p.
- Lochman, J., Sery, O., Mikes, V.** (2004). The rapid identification of European *Armillaria* species from soil samples by nested PCR. Department of Biochemistry. Faculty of Science. Masaryk University. Czech Republic. FEMS Microbiology Letters volume 237 (1), pp 105-110.
- Lõhmus, E.** (2004). Eesti metsakasvukohatüübid. Tartu. EPMÜ Metsanduslik Uurimisinstituut. 80 lk.
- Maijala, P., Raudaskoski, M., Viikari, L.** (1995). Hemicellulolytic enzymes in P- and S- strains of *Heterobasidion annosum*. Microbiology 141, pp. 643-648.
- Manka, M.** (2007). Tree Health. – In: Biology and Ecology of Norway Spruce. /Tjoelker, M.G., Boratyński, A., Bugala (eds.). Dordrecht, Springer, pp. 275- 293.
- Metsa majandamise eeskiri.** (vastu võetud 27.12.2006). – Riigi Teataja <https://www.riigiteataja.ee/akt/115122017017> (02.06.2019)
- Metsaseadus.** (vastu võetud 07.06.2006, viimati jõustunud 01.01.2007, osaliselt 1.07.2007). – Riigi Teataja <https://www.riigiteataja.ee/akt/MS> (02.06.2019).
- Morrison, D. J.** (2004) Rhizomorph growth, habit, saprophytic ability and virulence of 15 *Armillaria* species. Forest Pathology 34, pp. 15–26.
- Müller, M.M., Henttonen, H.M., Penttilä, R., Kulju, M., Helo, T., Kaitera, J.** (2018). Distribution of *Heterobasidion* butt rot in northern Finland. Forest Ecology of Management Volume 451, pp. 85-91.
- Niemelä, T., Renvall, P., Penttilä, R.** (1995). Interactions of fungi at late stages of wood decomposition. Annales Botanici Fennici 32, pp. 141–152



- Piri, T., Korhonen, K.** (2008). The effect of winter thinning on the spread of *Heterobasidion parviporum* in Norway spruce stands. *Canadian Journal of Forest Research*, 38 (10), pp. 2589-2595.
- Piri, T., Korhonen, K., Sairanen, A.** (1990). Occurrence of *Heterobasidion annosum* in pure and mixed spruce stands in southern Finland. *Scandinavian Journal of Forest Research* volume 5, pp. 113–125.
- Piri, T., Valkonen, S.** (2013). Incidence and spread of *Heterobasidion* root rot in unevenaged Norway spruce stands. - *Canadian Journal of Forest Research*. Volume 43 (9), pp. 872-877.
- Prospero, S.** (2003). Ecology of *Armillaria cepistipes*: population structure, niches, pathogenicity and interactions with *Armillaria ostoyae*: *Thesis*. Swiss Federal Institute of Technology, Zurich. 127 p.
- Pukkala, T., Möykkynen, T., Thor, M., Rönnerberg, J., Stenlid, J.** (2005). Modeling infection and spread of *Heterobasidion annosum* in even-aged Fennoscandian conifer stands. *Canadian Journal of Forest Research* volume 35, pp. 74-78.
- Roll-Hansen, F., Roll-Hansen, H.** (1995). On diseases and pathogens on forest trees in Norway 1966 –1975, part I. – *Communications of Norwegian Forest Research Institute* 479, 63 p.
- Rosenvald, R., Drenkhan, R., Riit, T., Lõhmus, A.** (2015). Towards silvicultural mitigation of the European ash (*Fraxinus excelsior* L.) dieback: the importance of acclimated trees in retention forestry. *Canadian Journal of Forest Research*, 45 (9), pp. 1206–1214.
- Sierota, Z.** (2013). *Heterobasidion* root rot in forests on former agricultural lands in Poland: Scale of threat and prevention. *Scientific Research and Essays*, vol 8(47), pp. 2298-2305.
- Stenlid, J., Redfern, D.B.** (1998). Spread within the tree and stand. In: Woodward, S., Stenlid, J., Karjalainen, R. & Hüttermann, A. (eds.). *Heterobasidion annosum*: biology, ecology, impact and control. CAB International. pp. 125–142.
- Swedjemark, G., Stenlid, J.** (1993). Population dynamics of the root rot fungus *Heterobasidion annosum* following thinning of *Picea abies*. *Oikos*. Volume 66 (2), pp. 247-254.
- Tedersoo, L., Bahram M., Põlme S., Kõljalg U., Yorou N. S., Wijesundera R., Villarreal Ruiz L., Vasco-Palacios A. M., Thu P. Q., Suija A., Smith M. E., Sharp C., Saluveer E., Saitta A., Rosas M., Riit T., Ratkowsky D., Pritsch K., Põldmaa K., Piepenbring M., Phosri C., Peterson M., Parts K., Pärtel K., Otsing E., Nouhra 37 E., Njouonkou A. L., Nilsson R. H., Morgado L. N., Mayor J., May T. W., Majuakim L., Lodge D. J., Lee S. S., Larsson K. H., Kohout P., Hosaka K., Hiiesalu I., Henkel T. W., Harend H., Guo L. D., Greslebin A., Grelet G., Geml J., Gates G., Dunstan W., Dunk C., Drenkhan R., Dearnaley J., De Kesel A., Dang T., Chen X., Buegger F., Brearley F. Q., Bonito G., Anslan S., Abell S., Abarenkov, K.** (2014). Global diversity and geography of soil fungi. – *Science* volume 346, Issue 6213, pp. 1256688-1–1256688-10.

**LISA**

**Lisa 1. Lihtlitsents lõputöö salvestamiseks ja üldsusele kättesaadavaks tegemiseks ning juhendajate kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta**

Mina, Merit Fjodorov,  
(sünnipäev 04/juuli/1994 )

1. annan Eesti Maaülikoolile tasuta loa (lihtlitsentsi) enda loodud lõputöö Juuremädanike kahjustuste analüüs üle 80 aastastes hariliku kuuse (*Picea Abies* (L.) Karst.) puistutes, mille juhendaja on Tiia Drenkhan *PhD*, Rein Drenkhan *PhD*
  - 1.1. salvestamiseks säilitamise eesmärgil,
  - 1.2. digiarhiivi DSpace lisamiseks ja
  - 1.3. veebikeskkonnas üldsusele kättesaadavaks tegemisekskuni autoriõiguse kehtivuse tähtaja lõppemiseni;
2. olen teadlik, et punktis 1 nimetatud õigused jäävad alles ka autorile;
3. kinnitan, et lihtlitsentsi andmisega ei rikuta teiste isikute intellektuaalomandi ega isikuandmete kaitse seadusest tulenevaid õigusi.

Lõputöö autor

\_\_\_\_\_

allkiri

Tartu, 3.06.2019

---

**Juhendaja(te) kinnitus lõputöö kaitsmisele lubamise kohta**

Luban lõputöö kaitsmisele.

\_\_\_\_\_

(juhendaja nimi ja allkiri)

\_\_\_\_\_

(kuupäev)

\_\_\_\_\_

(juhendaja nimi ja allkiri)

\_\_\_\_\_

(kuupäev)